© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Stapfia	55	349-394	11. September 1998

Arbeitstechniken für die Untersuchung blattminierender Schmetterlinge

Gerfried DESCHKA

A b s t r a c t : The author discusses methods for collecting, rearing, setting, and preservation of leaf-mining Lepidoptera as well as the appropriate microscopic technics.

K e y w o r d s : Leaf-mining Lepidoptera: collecting, rearing, setting, preservation, microscopic slides.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 351
1.1. Definition der Mine, Beschreibung 351
2. Das Sammeln 352
2.1. Das Sammeln von adulten Tieren 352
2.1.1. Der Lichtfang von Kleinschmetterlingen 353
2.1.2. Das Räuchern 353
2.1.3. Das Anlocken mit Pheromonen 354
2.2. Aufbewahrung und Transport von adulten Kleinschmetterlingen 354
2.3. Das Sammeln von Subimaginalstadien 355
3. Die Zucht von blattminierenden Schmetterlingen 356
3.1. Hervorragende Züchter blattminierenden Schmetterlinge 357
3.2. Trockenzucht der Minen 357
3.2.1. Sauberkeit 357
3.2.2. Wässern der Futterpflanzen 358
3.2.3. Nasses Minengut 358
3.2.4. Weitere Behandlung trockengelagerter Minen 359
3.3. Eizuchten auf der lebenden Pflanze 359
3.3.1. Spezielle Hilfen und besondere Hinweise 360
3.4. Insektengallen 361
3.5. Der Transport lebender Minen 361
3.6. Überwinterung 361
3.7. Abweichende Entwicklungen bei Zuchtbedingungen 363
3.7.1. *Bucculatrix*-Zuchten 363
3.7.2. Hinweise zur Elachistenzucht 364
3.8. Massenzuchten 364
3.9. Trennung von Wirt und Parasit 364
3.10. Desinfektion 365
3.11. Etikettierung des Zuchtmateriales 365
3.12. Zuchtprotokoll 365
3.13. Minenherbar 366
4. Die Bearbeitung der adulten Schmetterlinge 366
4.1. Die Präparation der Imagines 367
4.1.1. Die Spannbretter 367
4.1.2. Die Spannstreifen 368
4.1.3. Nadeln 368
4.1.4. Betäubung 368
4.1.5. Tötung 369
4.1.6. Das Spannen 369
4.1.7. Ratschläge zur Präparation 370

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

4.2. Trocknung ... 371
4.3. Montage ... 371
4.4. Besondere Hinweise ... 372
4.5. Entölen ... 372
5. Die Bearbeitung der subadulten Stadien ... 374
5.1. Eier und Raupen ... 374
5.1.1. Fotografie ... 375
5.2. Puppen ... 375
6. Exkursionsmaterial ... 376
6.1. Breiten, Tieffrieren ... 376
7. Gefriertrocknung ... 377
8. Fixierungsmethoden ... 377
8.1. Objekte ... 377
8.2. Fixierungsgemische ... 377
8.3. Alkoholkonzentration ... 378
8.4. Hinweise zur Fixierung ... 378
9. Aufweichmethoden ... 379
10. Sicherheit beim Gebrauch von Insektennadeln ... 380
11. Insektenpräparate für lichtmikroskopische Untersuchungen ... 380
11.1. Geräte ... 381
11.2. Chemikalien etc. ... 382
11.3. Mazeration ... 382
11.3.1. Genitase ... 383
11.3.2. Laugenmethoden ... 383
11.3.3. Kaltlaugenmethode ... 383
11.3.4. Heiße Lauge ... 384
11.4. Präparation bis zur Einbettung ... 385
11.4.1. Wässern ... 385
11.4.2. Säurebehandlung ... 385
11.4.3. Entfernung von Fetteinschlüssen ... 385
11.4.4. Präparationstechnik ... 385
11.5. Geäderpräparate ... 386
11.6. Alkohol, Färbung, Aufheller ... 387
11.7. Farbstoffe ... 388
11.7.1. Farben in alkoholischen Lösungen ... 388
11.8. Aufheller ... 389
11.9. Konservierung, Einbettung ... 389
11.9.1. Positionierung der Objekte ... 390
11.10. Ratschläge zur Anfertigung von mikroskopischen Insektenpräparaten ... 391
11.10.1. Schärfentiefe im mikroskopischen Bild ... 391
11.10.2. Reinigung der Deckgläschen ... 391
11.10.3. Luftblasen im Einschlußpräparat ... 391
11.10.4. „Füßchen" ... 391
11.10.5. Trocknung ... 392
11.11. Allgemeine Hinweise ... 392
11.12. Präparationsvorschläge für die Genitalpräparation ... 392
12. Aufbewahrung der Präparate ... 393
13. Andere Techniken ... 393
14. Zusammenfassung ... 393
15. Literatur ... 394

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

1. Einleitung

1.1 Definition der Mine, Minenbeschreibung

Blattminen sind vom Erzeuger konstruierte Hohlräume im Blatt, die den Bewohnern als Wohnung und Nahrung dienen. Bis jetzt wurden Larven von Coleopteren, Dipteren, Hymenopteren und Lepidopteren als Minenerzeuger identifiziert. Die Minierer ernähren sich also vom inneren Gewebe des Blattes und nützen den entstandenen Hohlraum. Die Blattepidermis bleibt fast ausnahmslos unversehrt und grenzt die Mine von den äußeren Bedingungen perfekt ab. So entsteht ein sehr spezifischer Lebensraum, eine besondere Nische, die nahezu ausnahmslos eine hundertprozentige Luftfeuchte bietet. Im Normalfall ernährt sich die Raupe nur vom Palisaden- und (oder) Schwammgewebe. Aber es gibt auch Minen in Blütenteilen, in Früchten und im Sproß, aber immer handelt es sich um grüne oder Speicher-Parenchyme, die als Mine genützt werden. Manche Minen entstehen im Blatt, und die Larve wechselt in die oben genannten Pflanzenteile; es gibt aber auch sehr selten den umgekehrten Fall.

Es kann angenommen werden, daß die Miniertätigkeit als eine sehr ursprüngliche Lebensform der Schmetterlinge gewertet werden kann, wenn nicht als die primäre. Viele sehr primitive Schmetterlingsfamilien sind unter den Minierern zu finden.

Meist werden die Eier der Minierer auf die Blattoberfläche abgelegt, oft aber auch unter die Blattepidermis versenkt. In diesem Falle verfügen die Weibchen über sogenannte Legebohrer, das sind besondere Ausbildungen der Papillae anales. Aber auch sogenannte Raspelkörper, Spitzen und dergleichen an den Analpapillen sind häufige Organe, die der geeigneten Positionierung des Eies dienen. Viele Eier werden mit klebenden Sekreten aus den Glandulae sebaceae angeheftet. Diese Sekrete können in Ausnahmefällen ein größeres Volumen als das Ei selbst aufweisen. Die Kittdrüsen im Abdomen des Weibchens können bei einigen Gruppen (z. B. Nepticulidae) sehr groß und auffallend sein.

Manche Minen enthalten nur eine Larve, andere wiederum mehrere. Die Eiablage solcher Erzeuger ist immer spezifisch. Wenn zwei oder mehrere Larven die Mine bewohnen, kann eine Larve die anderen töten und auffressen. In einer neotropischen Gangminenform minieren zwei bis fünf Larven um ihr Leben in parallelen, voneinander nicht abgegrenzten Gängen; die stärkste (schnellste) Raupe frißt letztlich die kleineren Raupen auf, so daß aus solchen Minen immer nur eine Puppe in der Mine resultiert.- Bei Massenvermehrungen kommt es immer zu einem gravierenden Platzmangel auf der Blattfläche. Daher wird bis in die benachbarte(n) Mine(n) miniert, und es entstehen oft große minierte Flecken, die aus vielen Minen ohne erkennbare Grenzen bestehen. In solchen Minen kommt es immer wieder zum Absterben vieler Raupen bzw. zum Kanibalismus.

Viele Arten weisen in einzelnen Stadien ihrer ontogenetischen Entwicklung verschiedene morphologisch differenzierte Minenformen auf. So minieren die Raupen vieler Gracillariidae zuerst als Sap-feeder („Saftschlürfer"). Diese Raupen haben Mandibeln, die parallel zur Kopfkapsel (und zur Längsachse) gerichtet sind. Mit diesen Mandibeln wird das Gewebe von der meist oberseitigen Epidermis getrennt, und die Larve schlürft den Zellinhalt. Durch die Trennung der Epidermis vom darunterliegenden Gewebe entsteht eine Zwischenschicht mit einer Gasfüllung und eine Lichtbrechung, daß die minierten Gänge und Flächen ein glasiges Aussehen, nicht unähnlich der Schleimspur einer Schnecke, erhalten. Die Phyllocnistidae haben sehr primitive Raupen, die dieses Jugendstadium der Sap-feeder („Saftschlürfer") nie überwinden konnten und zeitlebens so leben. Es folgt dann das Tissue-feeder-Stadium („Gewebefresser"), in dem die Larve einen etwa normal zur Körperachse ausgerichteten Kopf hat, die Mandibeln sich auch in dieser Position bewegen und das Tier Gewebe frißt, was deutlich am Gewebeverlust ersichtlich ist. Der Kot ist körnig und wird meist in vielfältiger Weise in der Mine gelagert. Der

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Praktiker kann schon nach kurzem Studium die „Reife" der Minen erkennen und abschätzen, ob er in der Lage ist, das Blatt bis zur Verpuppung der Raupe am Leben zu erhalten und dem Tier so Nahrung und günstige Konditionen zu bieten. Sogenannte unreife Minen bedürfen einer Sonderbehandlung, die später erläutert werden soll.

Es gibt verschiedene Minenformen wie Gang-, Platz-, Fleck- oder Faltenminen. Diese können wiederum Kot enthalten oder kotfrei sein bzw. ein Gespinst im Minenlumen aufweisen oder auch nicht.

2. Das Sammeln

Zum Studium und zur wissenschaftlichen Bearbeitung blattminierender Insekten ist eine Sammlung unbedingt erforderlich. Man kann sich an eine oder mehrere öffentliche Sammlungen wenden oder eine eigene Sammlung aufbauen. Öffentliche Sammlungen – auch die größten und besten – erfüllen meist nicht die hohen Anforderungen moderner Forschung und taugen nur zum Studium der Taxonomie, also der Typen oder der Prioritäten. Es sind kaum über die üblichen Etikettenangaben von Fundort, -datum und Sammler hinausgehende Informationen zu erhalten. Also bleibt es dem Bearbeiter oft nicht erspart, eine eigene Sammlung anzulegen, eine mühsame und harte Aufgabe und ein Lebenswerk. Hat man sich vor einigen Jahrzehnten noch mit dem Sammeln von adulten Insekten zufriedengestellt, so müssen heute höhere Ansprüche erfüllt werden, die nur durch die Zucht und eine informative Dokumentation der gesamten Metamorphose und der demökologischen Ansprüche der Art bewältigt werden.

Nur adulte blattminierende Schmetterlinge zu sammeln ist nicht zu empfehlen. Die Aussagekraft von Zuchten und die hier gewonnen Informationen sind der Kenntnis nur der Imagines vorzuziehen. Trotzdem ist es in Ausnahmefällen unumgänglich, dies zu tun. Einige Beispiele können dies verständlich machen: Im tropischen Wald ist es oft sehr schwer, die subimaginalen Stadien der höheren Schichten zu erreichen, und es gelingt nur, die flugfähigen Imagines am Boden zu finden. Ein andermal versäumt man die Saison der Entwicklungsstadien und trifft erst zur Flugzeit ein; auch hier ist man auf das Sammeln der Imagines angewiesen. Die Raupen und Puppen einiger weniger Arten leben so versteckt, daß ein Sammeln der adulten Schmetterlinge unerläßlich ist. Dies kann sogar in Europa passieren, wie das Beispiel einer süd- und mitteleuropäischen *Bucculatrix*-Art beweist: Sie wurde von drei Generationen von erfahrenen Sammlern als Schmetterling gefunden, aber nie in einem anderen Entwicklungsstadium. Es sei nicht verschwiegen, daß die Aufsammlungen adulter Motten im allgemeinen viel erfolgreicher und weniger aufwendig ist als das Sammeln der Subimaginalstadien.

2.1 Das Sammeln von adulten Tieren

Eine sehr erfolgreiche Methode, die oft große Mengen resultiert, ist das Käschern (Abstreifen) im weitesten Sinn. Man braucht dazu einen sogenannten Käscher, ein Sammelnetz mit einem starken Netzreifen und einem engmaschigen, starken Netz. Unbedingt vermeide man Kunststoffnetze, wie sie für Raupen, Käfer, Wanzen und andere Insekten verwendet werden, da sich der Stoff elektrostatisch auflädt. Die Aufladung ist für alle Insekten, ausgenommen Kleinschmetterlinge, ohne wesentliche Bedeutung. Diese statische Aufladung drückt den Kleinschmetterling an die Netzwand, und das Tier wird unbrauchbar verletzt. Später wird auch noch das Sammelgläschen durch den Kontakt mit dem Schmetterlingsnetz aufgeladen, und das gefangene Tier wird auch dort noch lädiert, bzw. überlebt die elektrostatische Aufladung nicht. Sehr gut bewähren sich Netzreifen aus Flachstahl mit gebohrten Löchern, in denen der Netzbeutel eingehängt wird; in diesem Fall wird der Netzrand bei Käschern nicht durch die Pflanzen beschädigt. Das Käschern in der Bodenvegetation braucht nicht näher beschrieben zu werden. Hervorragend ist das Käschern der unteren Äste im Wald, besonders im tropischen und subtropischen, wo man bis zu 7 Meter lange Netzstiele mit leichten Netzen verwendet.- Käschern in nasser Vegetation ist problematisch. Man berücksichtige auch die Tageszeit und bevorzuge

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

schattige Stellen. Das Käschern bringt allerdings nur adulte Tiere und liefert somit nur wenige Informationen.

2.1.1 Der Lichtfang von Kleinschmetterlingen

Der Lichtfang von Kleinschmetterlingen ist wohl die derzeit am meisten praktizierte und diskutierte Sammelmethode. Jeder hat sein eigenes Lichtaggregat und schwört darauf. Der Verfasser lehnt das Sammeln mit Stromaggregaten und starken Lampen strikt ab; diese Methode bleibe den Sammlern anderer Insekten vorbehalten. Außerdem kann man Stromaggregate nicht weit tragen und ist daher immer an die Nähe von Verkehrswegen, an Gebäude und an andere nicht natürliche Lebensräume gebunden. Gegen die Verwendung von starken Lampen und einem Netzanschluß zum Sammeln in Gebäudenähe kann nicht viel eingewendet werden. Während der Gewitter der Regenzeit ist dies oft die einzige Möglichkeit, die Tiere ans Licht zu bringen, wenn nicht durch Blitze der Netzstrom immer wieder zusammenbricht. Außerdem ist eine sehr starke Lichtquelle eine arge Störung der Natur, besonders auch für viele Vertebraten.

Von vielen praktischen Feldentomologen heftig angefeindet wird die Vorgangsweise, in eine Minierersammlung nur gezüchtete Tiere aufzunehmen, obwohl dies wohl die einzige Möglichkeit ist, von der reinen Systematik und Taxonomie weg einen Zugang in eine Welt des Lebendigen zu öffnen und nicht die ausschließliche Berücksichtigung nur der toten Imagines und ihrer Genitalien. Die Bearbeitung der Minierer soll über die reine Morphologie hinausreichen in die Gebiete der Metamorphose, der Adaptationen, der Ökologie und der Evolution. Nur so gelangt man zu einer ganzheitlichen Betrachtungsweise dieser Lebewesen.

Der Verfasser leuchtet meist mit einem für den Insektenfang umgebauten Insect Killer (spezielle Leuchtröhren zum Anlocken von nachtaktiven Insekten, in der diese Tiere dann auf einem elektrisch geladenen Drahtgitter getötet werden) von 15 W. Dazu bedarf es einiger kleiner oder einer einzigen großen Trockenbatterie, die man in jedem Land kaufen kann und nicht im Flugzeug transportieren muß. Neben der senkrecht montierten Leinwand (in Dreieck- oder Rechteckform, gewinkelt oder nicht) benötigt man ein möglichst großes Bodentuch. Sehr gut bewähren sich feine, durchsichtige Nylongewebe. Sie locken von beiden Seiten (beleuchtete und transparente Seite des Tuches), und es bedarf keines Umbaues bei Windwechsel, und sie trocknen in kurzer Zeit, auch ohne Sonne.

Für Kleinschmetterlinge werden auch oft Lichtfallen (light traps) verwendet. Die Insekten werden von der Lampe durch einen darunter angebrachten glatten Trichter in einen dunklen Spezialbehälter (sehr gut bewähren sich Eierbehälter aus Rohpappe (wood pulp)) gelockt, wo sich die Tiere relativ ruhig verhalten und erst nach einiger Zeit – vielleicht erst am Morgen – herausgenommen werden können. Mit dieser Methode erhält man nur lebende Imagines und kann der Biozönose nicht viel schaden. Selbstverständlich kann der Pappebehälter durch einen Tötungsbehälter mit einem entsprechenden Tötungsmittel (Chloroform, Chloroform-Essigäther-Gemisch, Ammoniak) ersetzt werden. Sammler von nicht beschuppten Insekten können einen Wasserbehälter mit einem geringen Tensidzusatz verwenden.

2.1.2. Das Räuchern

Zum Sammeln von Imagines, die in dichter Vegetation ruhen, bewährt sich auch das Räuchern. Damit erreicht man sehr viele Arten, unter anderem gras- und moosminierende Tiere, aber auch in dichten Flechtenthalli in büschelförmig wachsenden Pflanzen und können viele erwachsene Motten leicht erreicht werden. Der Autor empfiehlt den für Imker konstruierten Räucherapparat und verwendet als Heizmaterial Torf, Tabak, trockenen Wiederkäuermist und besonderes Blattmaterial (etwa das von den Böden der Heuböden oder Scheunen). Zigarren anstelle des Räucherapparates sind eher eine weniger angenehme Alternative.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

2.1.3. Anlocken mit Pheromonen

Für einige wenige Kleinschmetterlingsarten gibt es synthetische Pheromone im Handel. Das Anlocken mit Pheromonen kann Rekordergebnisse zeitigen, ist aber auch sehr problematisch, da fast ausnahmslos viele oder zumindest mehrere (verwandte oder nicht verwandte) Arten von einem Pheromon angelockt werden. Zeitraubende Determinationsmethoden (meist Unmengen von Genitalpräparaten) müssen nachher die Einsparung an Sammelzeit wieder kompensieren, um die Tiere zu identifizieren, besonders bei qualitativen Analysen. Außerdem findet man in Pheromonfallen nur männliche Tiere und eben nur adulte, sodaß man damit nur wenige Informationen und Daten erlangt. Wenn ein Bearbeiter klebende Pheromonfallen auswerten will, so kann er den Klebestoff mit einer größeren Menge Xylol oder Toluol lösen und auswaschen und die Tiere nach Trocknung des Lösungsmittels isolieren. Dem Autor ist es aber dann nicht gelungen, die nun perfekt entwässerten kleinen Blattminierer nach dem Aufweichen sauber zu präparieren, wobei das Haupthindernis in der Unmöglichkeit der Aufnahme von Feuchtigkeit aus dem Aufweichbehälter liegt. Der Grund dürfte in der stark austrocknenden Xylolbehandlung zu suchen sein.

2.2. Aufbewahrung und Transport von adulten Kleinschmetterlingen

Die kleinen Schmetterlinge sollen lebend in Eprouvetten in die Unterkunft oder in das Zelt gebracht werden, wo man sie in Ruhe versorgt. Es ist einleuchtend, daß man immer nur ein Tier in einer Eprouvette unterbringt. Daher benötigt man eine entsprechende Anzahl von Tablettengläschen mit einem Innendurchmesser zwischen 10 und 20 mm und entsprechender Länge und passende Korkpfropfen (siehe auch KLIMESCH (1968)). Damit können alle Kleinschmetterlinge versorgt werden. Die Korke müssen ohne Spalt am Glas anliegen und leicht zu öffnen und zu verschließen sein. Besonders gut werden solche Tablettengläschen gewählt, die gut und ohne einen größeren Spalt in das Lumen der Tötungseprouvette (des Tötungsglases) passen. Dann können die oft sehr lebhaften Motten kaum entweichen. Plastikröhrchen und Plastikverschlüsse prüfe man sorgfältig auf ihre Verwendbarkeit, bevor man sie auf längere Reisen mitnimmt.

Kondenswasser in den Eprouvetten vermeide man, wo immer es möglich ist. Sinkende Temperaturen können Kondenswasser verursachen, was besonders bei Regen zu beachten ist. Um ein Austrocknen bei Trockenheit zu vermeiden, gebe man etwas Blattmaterial (nie einen Wassertropfen) ins Gläschen. Ein einziges Grasblättchen genügt. Die gefüllten Röhrchen können in einer Holzschachtel mit einer Zellstoffeinlage gut befördert werden. Holz, Zellstoff, Wolle oder Baumwolle (Watte) sind gute Materialien, vor allem, weil diese auch gute Wärmeisolatoren sind und überschüssige Feuchte aufnehmen können.

Immer halte man beim Minensammeln einige Tablettengläschen bereit, um zufällig gefundene Motten einsammeln zu können. Auch beim visuellen Sammeln in der Bodenvegetation und in den Baumkronen bewähren sich solche Gläschen.

In einem Kühlschrank oder einem anderen Kühlsystem, einer Kühlbox mit einer Kühlbatterie, im sehr kalten Keller und bei sehr niedrigen Temperaturen am (im) Boden (Permafrost), können lebende Kleinschmetterlinge ohne Schaden einige Zeit gelagert werden. Dann jedoch müssen sie ausnahmslos betäubt bzw. getötet und gebreitet oder präpariert werden. Trockene Motten mit zusammengeschlagenen Flügeln sind auch mit guten Aufweichmethoden kaum mehr sauber zu spannen.

Wie schon oben erwähnt, sollen alle diese Sammelmethoden nur selten angewendet werden. Man vermeide, wo immer es möglich ist, das Sammeln von adulten Kleinschmetterlingen, da dies nur wenig Auskunft über deren Leben, ihre Entwicklung, ihre Adaptation und ihre Ökologie gibt.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

2.3. Das Sammeln von Subimaginalstadien

Das Sammeln von Raupen und Puppen blattminierender Schmetterlinge ist im allgemeinen nicht schwierig. Allerdings ist es oft nicht leicht, die Futterpflanze zu finden, weniger schwierig die darauf lebenden Minierer. Sehr kleinräumige Isolationen und winzige Reliktvorkommen machen immer Probleme. Dafür gibt es keine Regeln und Hilfen; jede Art hat ihre eigenen Bedingungen und Adaptationen. Einige Arten sind alljährlich oder saisonell selten, manche zeitweise oder immer so stark parasitiert, daß es einer sehr großen Anzahl von Minen bedarf, um einige Imagines zu erhalten.

Immer ist zu kontrollieren, ob das Minenmaterial auch wirklich lebende Minenerzeuger enthält, was im starken Durchlicht oft möglich ist. Sind braunen Flecken im Minenbereich (Nekrosen) zu erkennen, so kann oft geschlossen werden, daß der Minenerzeuger abgestorben ist oder die Mine schon verlassen hat. Nur aus Minen, die noch Raupen oder Puppen enthalten, können auch Imagines resultieren. Alle Arten von Löchern in der Mine zeigen an, daß diese keine lebenden Raupen oder Puppen mehr enthalten. Herausragende Exuvien signalisieren, daß der Schmetterling die Mine bereits verlassen hat.

Unreife (zu junge) Minen soll man nur dann sammeln, wenn man Gelegenheit zu Zuchtmethoden hat, die eine entsprechende Entwicklung ermöglichen. Besonders schwierig sind die jungen *Phyllocnistis*-Raupen bis zur Imago zu züchten.

Wichtig für eine erfolgversprechende Zucht ist die Erkennung einer „reifen" Mine, das ist ein fortgeschrittenes Minenstadium, das schon einen so großen Minenerzeuger enthält, daß eine erfolgversprechende Zucht möglich ist. Wenn die Larve erkennbar ist, so kann man an deren Größe meist abschätzen, ob eine Zucht bis zur Imago möglich ist. Aber auch der oben erwähnte Wechsel vom Sap-feeder-Stadium zum Tissue-feeder ist ein wichtiges Merkmal für das Entwicklungsstadium der Raupe bzw. der Mine. Wenn schon Blattgewebe bis auf die Epidermis abgefressen wird, ist die Aussicht auf eine gelungene Zucht bis zum adulten Stadium immer gegeben.

Viele Arten leben zuerst in der Mine und nachher frei auf der Pflanze und erzeugen Fenster und (oder) Lochfraß oder fressen die Blätter von der Seite an, wie dies auch Großschmetterlingsraupen machen. Andere wiederum leben frei und minieren trotzdem zeitweise zum Nahrungserwerb. Viele (z. B. Elachisten) wechseln ein- oder mehrmals die Mine.

Einige Gruppen leben in Köchern (*Coleophora* u. a.) und minieren in den Blättern, indem sie den Köcher verlassen und neben dem Mineneingang deponieren, oder sie minieren vom Köcher aus.

In ariden Gebieten, wie Steppen, Wüsten, Macchiengesellschaften und so fort, sind die überall vorhandenen Ameisen gefürchtete Prädatoren auch von blattminierenden Insekten. Man meide bei der Minensuche das massenhafte Vorkommen dieser Tiere, wie die Nähe von Nestern und Ameisenstraßen. Stellen, die Ameisen nur schwer begehen und besiedeln können, wie steile Sand- und Staubhänge und Böschungen sind oft sehr ergiebige Standorte von minierten Pflanzen.

Blattminierende Schmetterlinge sind im tropischen Regenwald recht selten, zumindest in Relation zur Biodiversität der anderen Insektengruppen, bzw. zum reichsten Angebot an verfügbarem Blattmaterial auf der ganzen Welt. Diese Aussage gilt aber nicht für die ökologisch recht unterschiedlichen subtropischen Wälder.

Immer wieder wird die Anzahl der zu sammelnden Tiere diskutiert. Wieviele soll man mitnehmen? Häufige Arten soll man schon wegen der unterschiedlichen Entwicklung, der Parasitierung von einigen sehr verschiedenen Stellen (verschiedene Gradienten in Bezug auf Höhenlage, Sonnenexposition, Feuchtigkeit und anderen physikalischen Bedingungen) und von verschieden alten Futterpflanzen entnehmen und gründlich in ökologischer und demökologischer Betrachtung studieren. Die Kenntnis von den Präferenzen gewisser Minierer für junge oder voll entwickelte Blätter bzw. Grundblätter (z. B. bei *Bucculatrix* an Artemisien und *Phyllonorycter* an

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Skabiosen- und Leguminosen) hilft nicht nur bei der Suche, sie ist auch ein noch weitgehend unerforschtes und interessantes Studium.

Manche Minierer haben eine Präferenz für beschattete Pflanzen entwickelt. So kommt *Bucculatrix crataegi* häufig auf Weißdorn nur im Unterwuchs vor. Die Wintergeneration der *Phyllonorycter lautella* und *sublautella* entwickelt sich ausschließlich auf Sämlingen und ganz niedrigen Sträuchern, oft unter dem Fallaub versteckt. Beide Arten nützen die bis in den Spätherbst und in den Winter grünen Blattparenchyme. *Sublautella* miniert den ganzen Winter durch und verpuppt sich erst im Spätwinter oder Vorfrühling, eine ganz auffallende Adaptation, die auch bei *Phyllonorycter quercifoliella* auf den laubwerfenden Eichen des atlantischen Bereichs und den wintergrünen des Mediterraneums auffällt. Viele *Phyllonorycter* auf wintergrünen Fabaceen (=Leguminosen) Makaronesiens, im Mediterraneum und Submediterraneum und sogar im atlantischen Bereich nützen auch dieses Angebot an wintergrünem Phytomaterial - eine besondere Nische. Auch einige Dipsacaceen-*Phyllonorycter* leben so. In der westlichen Nearktis fallen einige *Lonicera-Phyllonorycter* auf; sie entwickeln sogar den Praepupae ähnliche Larvenstadien, die viele Monate in der Mine verbringen.

Die freilebenden Raupen gewisser *Bucculatrix*-Arten sind erschütterungsempfindlich, sie können durch Erschütterungen der Futterpflanze, durch vorsichtiges Berühren etc. leicht zum „Abseilen" gezwungen werden, wobei sie vom Sammler viel leichter entdeckt werden.

Eine *Bucculatrix*-Raupe (*B. cretica*) hat während des nicht minierenden Stadiums eine spezielle Strategie. Sie seilt sich während der Flugzeit der in ihrem Areal massenhaft vorkommenden parasitischen Hymenoptera vom Eichenblatt (*Quercus pubescens*) ab und verbleibt am Faden in der Luft, meist über mehrere Stunden. Diese Raupen sind während des ganzen Vormittages in der Luft zu suchen, während sie sonst – wie alle auf Bäumen lebenden Arten dieser Gattung – in der Primärmine oder frei auf der Blattunterseite lebt.

In moskitoreichen Gebieten ist die Anwendung von Repellents unumgänglich. Daher reinige man nach der Anbringung des Repellents zuerst die Hände und verwende beim Sammeln nur reine Scheren und Pinzetten, nicht irgendwelche mit dem Repellent benetzte Geräte. Die Minen dürfen auch nicht die benetzte Kleidung oder Körperteile berühren. Etwas sicherer als Sprays sind Lotionen, Öle und Cremen, da mit deren Anwendung nur die gewünschten Oberflächen behandelt werden. Sehr sicher sind die jetzt modernen imprägnierten Netzjacken.

3. Die Zucht von blattminierenden Schmetterlingen

Die Zucht ist die wichtigste Dokumentationshilfe dieser Tiere. Daher soll nach Möglichkeit die Zucht die wichtigste Informationsquelle sein. Am Licht gefangene Imagines erbringen wenige Daten und Einsichten, gekätscherte, adulte Tiere ein wenig mehr, und die Puppensuche kann noch bessere Informationen erbringen. Wann und wo immer es möglich ist, soll Zuchtmaterial gesammelt und auch die subadulten Stadien konserviert werden, um die Grundlage für ein optimales und modernes Bild der Blattminierer zu ermöglichen. Schriftliche oder im Computer gespeicherte Aufzeichnungen oder Erkenntnisse aus der Ökologie, Demökologie, Metamorphose und spezielle Adaptationen, Futterpflanzenpräferenzen u. a. sind unerläßlich. Ich plädiere auch dafür, daß solches Material der Öffentlichkeit zugänglich sein und nach dem Ableben des Entomologen für die Nachwelt erhalten werden soll. Irgendwann wird sich irgendein Spezialist glücklich schätzen, solche Fakten zu finden und sie vielleicht auch in seinen Publikationen verwerten.

Alle Raupen der hier behandelten Familien leben in den ersten Stadien in Blattminen; manche bis zur Verpuppung; sie verpuppen sich entweder außerhalb oder innerhalb einer Mine; manche verlassen als Raupe die Mine und leben einige Stadien als freie Raupe bis zur Verpuppung.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3.1. Hervorragende Züchter von blattminierenden Schmetterlingen

Hervorragende Züchter auf diesem Gebiet waren bzw. sind P.C. Zeller, H.T. Stainton, C. v. Heyden, H. Rössler, Ch. Schröder, J.H. Kaltenbach, H.D.P. Wallengren, P. Milliere, H. v. Heinemann, P.F. Wocke, H.J.H. Wood, Frey, L. Sorhagen, G. Stange, V.T. Chambers, Lord Walsingham, Karl Eckstein, Constant, S. le Marchand, J. de Joannis, P. Chretien, Karl Mitterberger, H. Rebel, N.N. Filipjev, F. Hendel, B.T. Fletcher, E.L. Ragonot, H. Buhr, E.G. R. Waters, H. Calmbach, K.T. Schütze, L. Fulmek, F. Hauder, A. Petry, F.V. Theobald, W. Martini, J.W. Tutt, O. Nickerl, L. Lhomme, A. Gerasimow, H. Skala, H.P.S. Sonderup, B. Stary, F. Groschke, Conte Fred Hartig, M. Mariani, J. Müller-Rutz, I. Trägardh, S. Graf Toll, G. Voigt, W. Petersen, E.M. Hering, K. Burmann, W. Glaser, J. Klimesch, J. Buszko, A.M. Emmet, in Nordamerika C. Heinrich, J.G. Needham, B. Busck, St.W. Frost, Beatrice H. Tothill, Annette F. Braun, P.A. Opler, D. R. Davis, D. Wagner, in Neuseeland M.N. Watt. Leider haben die meisten dieser Experten kaum etwas zur Methodik der Züchtung geschrieben, sondern ihre Erfahrungen für sich behalten, und viele haben ihr Wissen ins Grab mitgenommen.

Bis jetzt wurden fachmännische Zuchtmethoden für blattminierende Insekten nur von ganz wenigen Entomologen konsequent durchgeführt, verbessert und weiterentwickelt. Große Mengen von Zuchtmaterial verdarben unter unsachgemäßer Behandlung.

3.2. Trockenzucht der Minen

Viele Pflanzen können nur trocken gelagert werden; dazu gehören die meisten gesammelten Blätter von Sträuchern und Bäumen. Nur wenig Material kann eingewässert werden. Die Alternativen – Wässern oder Trockenlagerung – sind etwa gleichbedeutende Zuchtmethoden; bei vielen Pflanzen kann nur für die Trockenlagerung verwendet werden, bei anderen nur die Wässerung, bei manchen stehen beide Methoden zur Wahl.

Zur Behandlung von trocken gelagerten Blattminen kann folgendes empfohlen werden:

Es soll nur die kleinste, zur Entwicklung der Raupen notwendige Menge an Blattmaterial gelagert werden.

Das Blattmaterial muß bei der Lagerung äußerlich trocken sein oder vorher gründlich abgetrocknet werden.

Die Blattgewebe sollen so lange wie möglich am Leben erhalten werden.

Das Hauptproblem ist der Wassermangel und der Abfall des Turgors.

Jede Fotosynthese während der Lagerung muß vermieden werden.

Die Feuchtigkeit im Behälter wird gesteuert.

Die Temperatur soll gleichmäßig niedrig gehalten werden. Die ideale Temperatur wäre um die 17° C

Nicht (entmineralisiertes oder destilliertes) Wasser aufsprühen, wenn die Minen schon gelagert sind. Erst wenn die Blattgewebe austrocknen, kann etwas gesprüht werden oder das Wasser auf Zellstoff in den Behälter gegeben werden.

3.2.1. Sauberkeit

Die Entwicklung von Pilzen und Bakterien muß vermieden werden. Daher können die Minen wie folgt behandelt werden:

Alle Minen sofort nach dem Einsammeln nach Futterpflanzen trennen und in dichten Polyäthylensäckchen in Isoliertaschen während der Exkursion aufbewahren. Besser als die druckempfindlichen Isoliertaschen eignen sich dichte Kunststoffschachteln oder stabile isolierte Gefäße,

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

die man sich selbst herstellen kann. Gut bewährt sich eine reflektierende oder weiße Außenschicht. Waffen- oder Werkzeugkoffer mit einem reflektierenden Leichtmetallkörper und einer dicken Schaumstoffisolierung darunter sind bei Exkursionen ideal, besonders wenn sie über Innenfächer verfügen. Kleine dichte Schaumstoffbehälter oder große Thermosgefäße mit einer sehr weiten Öffnung sind auch gut geeignet. Sind die Schaumstoffbehälter nur schlecht dichtend, so kann das Pflanzenmaterial in dichten Plastiksäckchen im Innenraum verstaut werden. Später kann das ganze Material gesichtet und bearbeitet in einer größeren Kühlbox gelagert werden.

3.2.2. Wässern der Futterpflanzen

Eine einfache Methode, um gewisses, besonders nicht verholztes Pflanzenmaterial frisch zu halten, ist das Einwässern. Folgende Prämissen sind zu beachten:

Vor dem Wässern müssen alle überflüssigen Pflanzenteile durch Schnitte entfernt werden. Diese Schnitte sollen möglichst kleinflächig sein, um weiteren Wasserverlust zu vermeiden.

Niedrige Temperaturen verzögern das Gelbwerden oder Welken. Das Optimum liegt hier bei 17°.

Auch beim Wässern ist das Hauptproblem der Wassermangel. Daher sofort nach dem Schnitt wässern, allenfalls die Blätter sprühen oder unter einer Haube lagern.

Jede, auch die kleinste Äthylenmenge (C_2H_4) vermeiden. Daher kein Obst, Gemüse, Schnittblumen in der Nähe des Pflanzenmateriales lagern.

Vermeidung der Assimilation durch Dunkelstellen.

Schiefe Stengelschnitte oder Splissen der Stengel sind recht spektakuläre und ebenso unwirksame Methoden zum Frischhalten.

Sauberes Wasser im Topf. Das Bakterienwachstum setzt sofort nach dem Einfüllen des Wassers ein. Bakterien verstopfen die Gefäße der Leitbündel, und die Pflanze kann kein Wasser mehr aufnehmen. Täglicher Wasserwechsel.

Frischhaltemittel, Silber, Zucker (1,2 g/l) und dergleichen sind kaum oder nicht wirksam. Das Einbringen von Salzen ist so stark von der Art des Pflanzenmateriales abhängig, daß keine allgemeinen Regeln gelten. Außerdem wird diese Methode so kompliziert und weitestgehend von der Pflanzenart abhängig, daß diese Anwendung besser nicht diskutiert wird, zumal die Erklärung der Frischhaltemethoden allein ein ganzes Buch füllen würde.

Bei sehr niedriger Luftfeuchte hilft oft eine über die Pflanzen gestülpte dichte Haube aus Polyäthylen oder einem ähnlichen Material. Leider bewährt sich diese Methode bei den meisten verholzten Pflanzen nicht, da diese bald nach dem Einwässern welken. Vor dem Laubfall ist das Einwässern überhaupt nicht zu empfehlen.

Oft wird erschlafftes, trockenes Blattmaterial durch Einlegen (Tauchen) in kaltes Wasser noch vor dem Absterben gerettet (siehe auch unten).

3.2.3. Nasses Minengut

Regennasse Minen sind bei Nässe oft die Regel. Solche Minen sind sehr sparsam mit einer kleinen Schere auszuschneiden, um besonders wenig Blattmaterial zu lagern. Dann kann in einem Sack aus Baumwollstoff getrocknet (Bewegung!) und gleich darauf in luftdichten oder gut schließenden Behältern gelagert werden. Wird eine hohe Luftfeuchte erwartet oder sind noch Wasserreste auf den Blattteilen, so ist getrockneter Zellstoff in entsprechender Menge beizufügen und nach Aufnahme der Feuchtigkeit wieder zu entfernen (siehe unten).

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3.2.4. Weitere Behandlung trocken gelagerter Minen

Um die Blattgewebe möglichst lange am Leben zu erhalten, müssen – wie oben schon erwähnt – alle von der minierenden Raupe nicht gebrauchten Blatteile entfernt werden. Das geschieht durch Ausschneiden der Minen und der zu ihrer Fertigstellung notwendigen Pflanzenteile mit einer kleinen Schere. Dabei soll ein entsprechender Saum von 5-10 mm erhalten bleiben. Kleine Blätter werden nicht beschnitten. Um die entsprechende Luftfeuchte zu erhalten, bedarf es einer Steuerung der Luftfeuchte. Zu hoher Wassergehalt in der Luft bedingt Kondenswasser und in der Folge Schimmelbildung. Daher sind Wasserreste so bald wie möglich wegzuwischen. Zu niedrige Luftfeuchte läßt die Blätter austrocknen und absterben. Daher muß in zu trockener Atmosphäre Wasser beigegeben werden. Dies kann man sehr grob mit einem Zerstäuber oder besser mit angefeuchteten Zellstoffstücken machen; diese sollen gut im Minenmaterial verteit werden. Als Grundsatz gelte, nur maximal ein Viertel des Behälters mit Minenmaterial zu füllen. Der Rest wird einem der Entwicklung günstigen Luftraum vorbehalten.

Die Fotosynthese wird durch lichtdichte Behälter vermieden, das heißt, die einzelnen Behälter werden in einer Kühlbox gelagert. Die Verwendung von elektrisch gesteuerten Kühlaggregaten hat sich eigenartigerweise nicht bewährt. Auf Expeditionen und großen Exkursionen müssen meist extreme Außentemperaturen (im Fahrzeug, im Raum, Zelt usf.) bewältigt werden. Dabei hat sich die Steuerung durch Verdunstungskälte hervorragend bewährt. Über die Kühlbox wurde ein feuchtes, großes, weißes Frotteetuch in mehreren Lagen so gelegt, daß möglichst große Teile der Oberfläche (nicht des Bodens) vom Tuch bedeckt waren. In extremen Temperaturen ist das Tuch immer wieder zu befeuchten, jedoch nicht zu durchtränken. Jede Sonneneinstrahlung auf die Box ist zu vermeiden, eine Maßnahme, die in Fahrzeugen oft schwer durchzuführen ist. Auch in Leichtzelten ist die Sonneneinstrahlung wegen der lichtdurchlässigen Dächer meist sehr hoch.

Durch eine gute Steuerung der Luftfeuchte mit getrocknetem bzw. angefeuchtetem Zellstoff können ein Bakterienwachstum oder eine Schimmelbildung im Minenbehälter vermieden werden. Der Grad der Luftfeuchtigkeit ist für den Anfänger nicht leicht abzuschätzen, aber nach Erwerb einer gewissen Erfahrung werden die Probleme immer weniger. Die Trocknung des Zellstoffes kann unter gegebenen primitiven Umständen in der Sonne, über Glühlampen oder in erhitztem Campinggeschirr erfolgen.

Ein gut dosiertes Öffnen der Zuchtbehälter für eine ganz bestimmte Zeit und ohne Sonneneinstrahlung kann in unseren Breiten die Luftfeuchte bzw. die Feuchtigkeit des Pflanzenmateriales senken, ist aber eine eher radikale Methode. Ein unbedingtes Erfordernis ist die tägliche Kontrolle und Lüftung der Behälter und das Absaugen (Abwischen) von Kondenswasser.

3.3. Eizuchten auf der lebenden Pflanze

Eizuchten sind bis jetzt kaum durchgeführt worden. Sie gelingen auf eingetopften Pflanzen unter Gazehauben gut, besonders wenn keine Überwinterung notwendig ist. Auch die Kopula und die Eiablage sind so meist leicht zu erzielen, wenn man mehrere Tiere beider Geschlechter verwenden kann und im Glashaus einigermaßen natürliche physikalische Bedingungen bietet. Für die Imagines ist eine längere Sonneneinstrahlung tödlich, Minen stellt man am besten in den Halbschatten; nur xerophile Pflanzen gehören zeitweise in das pralle Sonnenlicht.

Schwierig ist oft das Ausgraben der Tiefwurzler. Es empfiehlt sich, solche Pflanzen aus dem Samen zu züchten oder sie auszugraben und besondere und derzeit leicht erhältliche, sehr schmale Stichschaufeln zu verwenden. Auch sehr tiefe Pflanzgefäße müssen angeschafft werden.

Alle Zuchten müssen selbstverständlich in getrennten Behältern gehalten werden, am besten nach der Art der Futterpflanze, die man so schnell wie möglich determinieren soll. Mehr als eine Art soll nie in einem Behälter untergebracht werden. Dies erfordert eine entsprechende Zahl von verschieden großen Behältern auf Exkursionen.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Die Zuchten sind zumindest einmal täglich zu kontrollieren und zu lüften. Im Normalfall sind die Imagines sofort zu töten. Dazu wird für das Einfangen der Motten aus Plastik- oder Glasbehältern eine Haube aus durchsichtigem Netzstoff verwendet, um ihr Entkommen ausnahmslos zu vermeiden. Weniger folgenschwer ist ein Entkommen von Endoparasiten, aber auch diese sind nach Möglichkeit zu töten und zu konservieren.

3.3.1. Spezielle Hilfen und besondere Hinweise

Kleine minierte Pflanzen und Sämlinge können eingetopft werden, und dann kann die weitere Entwicklung der Subimaginalstadien auf der lebenden Pflanze studiert werden. Diese Methode wird kaum angewendet, obwohl der Aufwand sicher nicht groß ist.

Bei den schwer zu findenden und meist seltenen und lokalen Elachistidenminen kann ein einfacher Trick beim Wechsel der Raupen auf neues Futter helfen, da fast alle dieser Raupen ein- oder einige Male ihre Mine wechseln, ein Vorgang, der sowohl in der Natur als auch bei Zuchten beobachtet werden kann. Man versuche folgende erprobte Methode: Beim Eintragen schneidet man nicht nur das befallene Blatt ab, sondern auch den Stengel oder das darunterliegende Blattbüschel, so daß sich ein wenig mehr Pflanzenmaterial im Behälter befindet. Dann gräbt man eine ganze Pflanze (miniert oder nicht) aus und topft sie ein. Nach einigen Tagen und besonders, wenn Raupen die Minen verlassen, gibt man einige frische Blätter der eingetopften Pflanze zum Minenmaterial. Das Überführen freier Raupen auf die eingetopfte Pflanze ist eine riskante Alternative, da dabei Raupen verlorengehen können.

Die Determination der Futterpflanzen ist bei Grasminierern oft schwierig, da die Gräser zur Zeit des Minierens nicht blühen oder fruchten. Um die Pflanze später wieder zu erkennen, wende man folgenden Trick an. Man schneidet den Grasstengel durch einen Handschnitt mit einer guten Klinge quer und kann dann mit einem Schnitt durch die Stengel der späteren Pflanze vergleichen, ob es sich um die gleiche Art oder eine andere handelt. Die Form des Querschnittes und besonders die Anlage der Gefäßbündel ist so charakteristisch, daß eine Verwechslung ausgeschlossen werden kann. Zur Betrachtung ist eine stark vergrößernde Lupe ausreichend.

Beim Sammeln gibt es unzählige Probleme, denen man nach bestem Wissen und oft mit einem beachtlichen Aufwand begegnen muß. Alle Räuber, wie Ameisen und Spinnen, müssen vom Material ferngehalten werden. Oft entgehen winzige Raupen oder Eier von blattfressenden Insekten der Kontrolle; geschlüpfte Larven fressen dann die minierten Blätter und verunreinigen die Zucht. Solche Tiere müssen so bald wie möglich entfernt werden. Arg verunreinigte Minen – meist durch Staub – können ohne weiters ohne Reinigung mit Erfolg zum Schlüpfen gebracht werden. Um Zersetzungsvorgänge in den absterbenden Blättern zu vermeiden, senkt man die Blatt- und Luftfeuchte. Einige Blattgewebe beginnen nach einigen Tagen unangenehme Gerüche zu produzieren (z. B. Salicaceen, einige Fabaceen); man kann nur sehr schwer abhelfen; eine Methode ist die Anwendung von Holzkohle, die in nicht zu kleinen Mengen auf den Boden des Gefäßes gelegt wird. Übrigens muß dieser üble, scharfe Geruch nicht unbedingt dem Insektenmaterial schaden. Einige *Phyllocnistis*-Arten minieren vor allem in der ersten Generation die frischen Blätter und auch Bastgewebe von Rutaceen, Salicaceen, Magnoliaceen und anderen. Diese Blattparenchyme enthalten viel Wasser und haben ein nur schwaches Zelluloseskelett. Solche Pflanzenteile sind nur kurze Zeit am Leben zu erhalten. Mit dem Absterben der Blätter gehen nach kurzer Zeit auch die Raupen und sogar meist die Puppen (wegen Quetschung der Puppenhöhle) zugrunde. Nach dem Abschneiden kann man die Pflanzenteile durch sofortiges Einwässern mit einem Zusatz von Auxinen und oftmaliges Sprühen am Leben erhalten. Man beachte auch die Anweisungen für das Frischhalten von Schnittblumen. Manche kleine Pflanzen, besonders flachwurzelnde, können ohneweiters ausgegraben und eingetopft werden, eine Methode, die sich immer lohnt, wenn die Minen noch längere Zeit zur Entwicklung benötigen.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3.4. Insektengallen

Insektengallen werden im allgemeinen wie Minen behandelt. Großzügiges Abtrennen vom übrigen Stengel ist von Vorteil. Nur wenige Gallen sollen in einem Behälter lagern, da Gallen noch viel leichter unter Schimmelbildung verderben können als minierte Blätter.

3.5. Der Transport lebender Minen

Auf den unvermeidlichen Transporten in ausnahmslos allen Klimazonen ist die Sonneneinstrahlung auf die Minenbox die größte Gefahr, besonders in Personenautos, wo die Auswahl des Standortes der Box problematisch ist. Während der Fahrt erhitzt sich das Blech nur gering, daher ist der Kofferraum ein guter Platz; beim Parken suche man eine günstige Stelle im Fond, berücksichtige aber den sich ändernden Einfallswinkel der Sonnenstrahlen. Dies ist besonders auch in subarktischen und arktischen Zonen zu berücksichtigen, wo die Sonne tief steht und daher sehr stark ins Innere des Fahrzeuges strahlt. Selbstverständlich ist eine Lagerung in Heizungsnähe zu vermeiden. Wenn es irgendmöglich ist, schaffe man sich ein Auto mit hellem Lack an.

Während der Fahrt wird das Pflanzenmaterial gerüttelt. Daher schlüpfen am Tag nach einem längeren Transport kaum Imagines; an den ungestörten Folgetagen ist wieder ein normales Schlüpfen zu erwarten. Besonders empfindlich sind die Puppen der *Leucoptera*-Arten.

Die Dunkelheit im Zuchtbehälter schließt Kopulationen der geschlüpften adulten Tiere aus, so daß schon dadurch eine spätere Ablage von befruchteten Eiern ausgeschlossen wird.

Trocknet das Minenmaterial während des Heimweges zu stark aus, oder wird es überhitzt, so kann das gesamte Pflanzenmaterial für einige Stunden in frisches Wasser eingelegt werden, um den Turgor wieder herzustellen; manche seltene Minen können so noch gerettet werden. Das Minenlumen und somit die Larven oder Puppen werden durch das Wasser nicht negativ beeinflußt. Selbstverständlich ist dieses Einlegen in Wasser zeitlich beschränkt und muß überwacht werden. Blätter, deren Turgor während dieses Vorganges nicht mehr wieder hergestellt wurde, können meist entfernt werden, wenn sie noch eine Raupe und nicht schon die Puppe enthalten. Nach diesem Vorgang muß alles Material sorgfältig getrocknet werden (siehe oben).

Der Autor hat sein Zuchtmaterial im Hochsommer durch viele Wüsten und Steppen mit Temperaturen bis über 50° transportiert und kaum einmal einen Ausfall hinnehmen müssen.

3.6. Überwinterung

Einige wenige Arten überwintern als winteraktive Raupen (z. B. *Caloptilia*-Arten mit Adaptationen an mediterrane Bedingungen, alle nearktischen, in Caprifoliaceen minierenden *Phyllonorycter*, alle holarktischen *Viburnum*-Minierer, *Argyresthia*). Manche Raupen dieser Arten können künstlich beschädigte Minenteile wieder ausbessern. So kann man im Winter zusehen, wie eine Raupe der in *Viburnum* minierenden *Phyllonorycter* ein Loch in der Mine zu reparieren versucht.

Einige dieser oben genannten Arten sterben schon bei geringen Minustemperaturen. Daher ist die Überwinterungstemperatur nur auf etwa -3° C abzusenken, und die Tiere sind schon Mitte Jänner ins Warme zu bringen. Unter natürlichen Bedingungen entwickeln sich *Argyresthia* im Frühling noch wochenlang und schlüpfen oft erst Mitte Mai. Zuchten dieser Tiere sind bis jetzt noch kaum erfolgreich durchgeführt worden.

Einige Arten (in oberseitigen Minen minierende *Phyllonorycter* von *Quercus*, die *Phyllonorycter leucographella* vom Feuerdorn und mehrere mono- oder oligophage Nepticulidae, die in hartblättrigen Eichen minieren) überwintern im 1. oder 2. Larvenstadium. Sie weisen eine hochspezialisierte Anpassung an hartblättrige Sträucher auf und nützen die Nische des wintergrünen Blattes. So konnte der Verfasser nachweisen, daß eine in *Quercus*

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

ilex minierende Nepticulide im ersten Raupenstadium eine Diapause von 11 Monaten und etwa 20 Tagen durchmacht und dann in kürzester Zeit alle übrigen Larvenstadien, die Puppenruhe und das adulte Stadium durchläuft. In der Diapause ist die Raupe etwa 1 mm lang und liegt im Anfangsteil der Mine. Fast so extrem verlaufen die Diapausen der anderen oben genannten Arten.

Ausnahmslos alle diese Arten konnten bis jetzt in der Zucht nicht über den Winter gebracht werden. Eine erfolgreiche Überwinterung ist nur im lebenden Blatt möglich, und im Frühling müssen lebende Blattparenchyme bis zur Verpuppung zur Verfügung stehen. Daher sammelt man alle diese Arten im Frühling.

Die Zucht von überwinternden Raupen ist dann leicht, wenn es sich um Vorpuppen (z.B. *Cameraria*-Arten) handelt. Schwierig ist es, winteraktive Raupen (an grünen Eichensämlingen überwinternde *Phyllonorycter*, fast alle in Caprifoliaceen minierende *Phyllonorycter*, einige an Rosaceen lebende Arten dieser Gattung) über längere Zeit bis nach der Überwinterung zu züchten, da die Blattgewebe nicht über eine so lange Zeit lebend erhalten werden können. Sie benötigen ausnahmslos eine Kälteperiode, sind aber doch noch mit den üblichen Zuchtmethoden zu bewältigen. Oberseitige Minen der Gattung *Phyllonorycter* (nur Minen an hartblättrigen Eichen, Ahornen und Feuerdorn) können nicht vom Herbst bis in den Frühling am Leben erhalten werden. Sie sind daher erst im Frühjahr zu sammeln. Das gleiche gilt für alle Minen, deren Erreger in einem frühen Stadium (vor allem als Sap-feeder) überwintern. Daher ist das Minensammeln in Chaparalgebieten, Macchien s.l., Savannen, Wüsten etc. im Frühling zu empfehlen, da viele überwinterte Minen nur zu dieser Zeit erhalten werden können.

Wenn nur wenige Minen in einem Behälter überwintert werden sollen, so gibt man feuchten Zellstoff zu den Minen und ersetzt so dichtes Fallaub, das für eine anhaltende Feuchte sorgt. Gerade bei dieser Methode wird eine gute Durchlüftung gebraucht.

In der Praxis kann überwinterndes Minenmaterial in luftigen Säckchen (in Teilen von Damenstrümpfen oder unter ähnlichem Material) auf luftigen Balkonen, in eingegrabenen, nach oben offenen, großen Pflanzenschalen oder Blumentöpfen mit einem Deckel aus Welleternit über den Winter gelagert werden. Wichtig ist, daß die Temperatur der Minen nicht weit unter den Gefrierpunkt absinkt und eine günstige Luftfeuchte garantiert ist. Auf Balkonen und Dachböden gelagerte Minen müssen in regelmäßigen Abständen leicht besprüht und luftig verwahrt werden. Die Unterbringung in Damenstrümpfen hat auch den Vorteil, daß die Minen vor Schädlingen und Schnecken sicher sind.

Vor vielen Jahren hat der Verfasser seine Minensäckchen in Laubhaufen vergraben und Anfang Februar ohne Anpassung sofort ins Warme gebracht. Aus diesem Material resultierten hervorragende Ergebnisse.

Einige Arten brauchen keine Überwinterung, doch ist das Wissen über diese Arten noch sehr gering. Sicher sind *Phyllonorycter medicaginella* und der *Phyllonorycter-alpina*-Komplex ohne Diapause züchtbar.

Unter mitteleuropäischen Bedingungen überwinterte Minen können schon ab 15. Jänner warmgestellt („getrieben") werden. Einige erfahrene Praktiker empfehlen schon ein Treiben ab 10. Jänner, wenn die Tiere normalen Winterbedingungen mit „tiefen" Temperaturen ausgesetzt wurden. Der Verfasser hat immer erst etwas später warmgestellt, um den Tieren möglichst naturnahe Bedingungen zu bieten, hat damit aber nicht immer Erfolg gehabt.

Es wurde auch eine sehr lange Diapause in der Zucht versucht, und die Minen wurden erst im ersten Aprildrittel ins Warme gebracht. Es ergab sich eine auffallend lange Schlüpfzeit der Imagines, was sicher auch nicht erwünscht ist.

Es besteht der begründete Verdacht, daß durch eine wesentlich verkürzte Diapause – wie bei vielen Großschmetterlingsfamilien – die Fertilität der geschlüpften Tiere negativ beeinflußt wird. An unfruchtbaren Imagines sind keine äußeren Unterschiede zum gesunden Schmetterling erkennbar, und solches Zuchtmaterial ist äußerlich von normal überwintertem Material

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

nicht unterscheidbar. Man berücksichtige aber, daß eine Störung der Fertilität, Impotenz und weibliche Unfruchtbarkeit, Anomalien der Gonaden, verkümmerte Ovarien usf. zu den größten populationslimitierenden Faktoren in der gesamten lebenden Natur überhaupt gehören und in kurzer Zeit zu einer geringeren Populationsdichte (in diesem Zusammenhang die Unmöglichkeit der Weiterführung der Zucht) oder zum Erlöschen der gesamten Population führt, auch wenn morphologisch keine Anomalien erkennbar sind. Die Überwinterung in der Zucht ist kein natürlicher Vorgang, und auch die günstigsten Zuchtbedingungen können natürliche Verhältnisse nicht perfekt ersetzen. Außerdem berücksichtige man, daß auch in der Natur die Überwinterung der Blattminierer den größten Selektionsvorgang im Jahreszyklus bedeutet. Daher: Überwinterte Minen – gleichgültig, ob es sich um Raupen oder Puppen handelt – sollen ausnahmslos schon vor dem 15. Februar warm behandelt werden.

Die meisten im Blatt überwinternden Puppen oder Raupen liegen am Boden. In Gebieten mit einer Schneedecke in der kältesten Zeit sind solche Minen nicht einer besonders tiefen Temperatur ausgesetzt. Daher wähle man zur Überwinterung solchen Materiales Temperaturen um 0°C. Tiere mit mediterranen oder ähnlichen Adaptationen können schon bei Temperaturen unter -5°C absterben. Man vermeide immer tiefe Überwinterungstemperaturen oder auch nur Perioden mit tiefen Temperaturen.

Aus überwintertem Puppenmaterial schlüpfen immer zuerst Parasiten. Am vierten Tag nach dem Warmstellen sind die ersten Parasiten im Behälter, wenn entsprechend viele Tiere im Zuchtbehälter überwintert wurden. Am 6. Tag sollen schon die ersten Minierer gefunden werden. Sind am 10. Tag noch keine Lepidopteren geschlüpft, so können kaum noch viele erwartet werden. Dies gilt allerdings nur für überwinterte Puppen aus störungsfreien Zuchten, nicht für winteraktive Raupen, Vorpuppen und so fort, die sich ja noch verpuppen und dann wesentlich später schlüpfen.

Sehr tiefe Überwinterungstemperaturen resultieren bei ganz gewissen Arten (z. B. Rosaceen-*Phyllonorycter* in unterseitigen Minen und *Phyllonorycter salictella* etc.) eine besonders kräftige, dunkle Pigmentierung der Schuppen. Zu geringe Feuchtigkeit bei der Verpuppung bewirkt eine schwache Sklerotisierung des Puppenintegumentes. Daher sind beide Bildungen Modifikationen.

3.7. Abweichende Entwicklungen bei Zuchtbedingungen

Einige Arten verschiedener Familien, die sich außerhalb der Mine verpuppen, zeigen bei gut dichtenden Zuchtbehältern ein anderes Verhalten; sie verpuppen sich nämlich schon in der Mine. Dazu gehören die *Phyllonorycter* der *helianthemella*-Gruppe und einige *Elachista*-Arten, besonders jene der *rudectella*-Gruppe. Diese Art der Verpuppung in der Mine ist bei Elachistiden nicht immer leicht zu erkennen, da einige Arten von Endoparasiten befallen werden, die die Raupe im letzten Stadium verlassen und sich vor dem Raupenkopf verpuppen. Nun liegt die Puppe des Parasiten unmittelbar vor der leeren und transparenten Raupenhaut. Dies täuscht eine Schmetterlingspuppe vor, und das hier entstandene Bild ist ohne Minenöffnung oft schwer zu diagnostizieren und von einer Verpuppung in der Mine nicht zu unterscheiden.

3.7.1. *Bucculatrix*-Zuchten

Bucculatrix-Raupen erfordern eine besondere Behandlung. Sie gehen bei zu hoher Luftfeuchte und geringer Lüftung meist ausnahmslos zugrunde. Trotzdem verwende man die beschriebenen dichten Behälter, gebe aber nur wenig Futter und wenige Raupen hinein. Ein oftmaliges Lüften ist günstig, ausgenommen die im nächsten Absatz beschriebenen Bedingungen. Puppen müssen ausnahmslos in luftigen Behältern gezüchtet werden.

Einige wenige *Bucculatrix*-Raupen können enge Spalten ohne weiteres bewältigen und schlüpfen überall durch. Dieselben Arten verpuppen sich auch in solchen engen Räumen, genau dort, wo ein Kokon unerwünscht ist. Man versuche eine Zucht in zugebundenen Papiersäckchen mit

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

schmalen Streifen von Wellpappe und öffne nur, wenn es unbedingt erforderlich ist, am besten erst nach der Verpuppung. Vielleicht ist es gut, in diesen Säckchen eine größere Menge von Blättern der Futterpflanze zu lagern, um die Luftfeuchte zu garantieren. Es empfiehlt sich, die Papiersäcke in einen luftdichten Behälter (Polyäthylenbeutel, Plastikgefäß) einzuschließen, um ein Ausdörren zu vermeiden. Bei besonderer Trockenheit sprühe man die Papiersäckchen von außen an.

Die nach dem Schlüpfen übrigen Reste gibt man in einen dichten Sack mit einer kleinen Menge eines Tötungsmittels (Insektizid, Insektenspray, Mottenpapier, Essig- oder Schwefeläther etc.) um allenfalls noch lebende Tiere zu töten und entsorgt über den Restmüll, nicht auf dem Komposthaufen, da die in den Kunstoffhüllen eingeschlossenen Organismen wahrscheinlich nicht kompostiert werden.

3.7.2. Hinweise zur Elachistenzucht

Elachistidae sind Grasminierer und meist schwer zu finden, und Elachistenzuchten sind meist ein besonderes Ereignis. Daher gebührt dieser Familie besondere Sorgfalt. Viele dieser Tiere wechseln ein- oder einige Male die Mine. Daher empfiehlt es sich, auch kleine Raupen zu sammeln und für frisches Futter zu sorgen. Das kann durch Ausgraben einer Graspflanze und Eintopfen in einem entsprechenden Behälter geschehen. Da Gräser sehr unter Lichtmangel leiden, müssen sie immer gutem Licht oder (bei Wiesen-, Steppen-, Präriegräsern usf.) vollem Sonnenschein ausgesetzt sein. Zum Minenwechsel gebe man immer wieder frische Blätter oder ganze Pflanzen in die Minenbehälter, besonders dann, wenn halberwachsene Raupen außerhalb der Mine gefunden werden. Da das Raupenstadium der meisten Elachisten nur kurz ist, werden bei dieser Methode keine besonderen Schwierigkeiten zu erwarten sein.

Niemals züchte man Elachistenraupen in ganz dichten Behältern, da sie sich dort wegen der für sie zu hohen Luftfeuchte nicht verpuppen können, sondern befolge die oben angeführten Methoden.

3.8. Massenzuchten

Der Anfänger und Sammler begnüge sich mit der Zucht von einigen Dutzend Imagines, wozu ohnehin schon ein beträchtliches Minenmaterial notwendig ist, wenn man die Ausfälle berücksichtigt. Massenzuchten sind nur zu wenigen besonderen Zwecken notwendig, u. a. zu quantitativen und allenfalls auch zu qualitativen Analysen von Endoparasiten, demökologischen Untersuchungen und einigen anderen, selteneren Aufgaben.

Die Schwierigkeit, eine Massenzucht durchzuführen, liegt weniger in der Bewältigung der Menge des Zuchtmateriales, die man ohne weiters in größeren Behältern unterbringen könnte, sondern vielmehr in der Erreichbarkeit der geschlüpften Tiere, die sehr agil sind und sofort entweichen. Daher verteilt man viel Material in mehrere kleinere Behälter, um Verluste durch Entweichen der adulten Tiere zu vermeiden.

3.9. Trennung von Wirt und Parasit

Einige Aufgaben aus der Angewandten Entomologie verlangen strikte Trennung von Wirten und Parasiten. Die Wirtsinsekten der minierenden Schmetterlinge sind fast durchwegs größer als ihre Endoparasiten, und sie schlüpfen auch nicht durch enge Löcher wie die Parasiten. Daher wendet man folgenden, in keiner Literatur oder sonstwo erwähnten Trick an: Man verstaue die gesamte Zucht in einen herkömmlichen Raupenbehälter, also eine Schachtel oder in eine größere Kiste, die mit einem Deckel, der mit einer den Gegebenheiten entsprechenden Drahtgaze ausgestattet ist, verschlossen wird. Es werden ausnahmslos alle Dimensionen der Gaze erzeugt und sind im Handel erhältlich. Freilich erfordert die Abschätzung der Maschenweite

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

einiges Probieren, führt aber zu einer riesigen Arbeitsersparnis beim Freisetzen der Parasiten ohne die (schädlichen) Wirte, so daß diese (Sieb-) Methode wert wäre, patentiert zu werden. Eigenartig, daß anscheinend niemand so etwas je überlegt hat.

3.10. Desinfektion

Bisher wurden billige gebrauchte Zuchtbehälter in den Müll geworfen. Die komplizierte Entsorgung und der sparsame Umgang mit allen Materialien erfordern eine Wiederverwendung der Behälter und somit ein Waschen und Desinfizieren. Man kann die Behälter nach großväterlicher Methode in heißer Sodalösung mit einer Bürste oder einem Borstenpinsel gründlich waschen (Verwendung von Gummihandschuhen); das Soda kann man mit dem gleichen Effekt durch Tenside ersetzen. Als gründliche Desinfektion hat sich ein folgendes Auswaschen mit kleinen Mengen von hochkonzentriertem Aethanol oder 100%igem Isopropanol hervorragend bewährt. Dabei wird das lästige Trockenwischen der Behälter sowohl nach der Wasserbehandlung als auch nach der Alkoholdesinfektion durch die Verdunstung ersetzt. Der Autor hat oft mit Alkohol behandelte Behälter vorerst nicht getrocknet, sondern den Alkohol bis zum nächsten Gebrauch des Behälters in diesem belassen, was eine hundertprozentige Gründlichkeit der Desinfektion garantiert.

Man kann lebendes Minenmaterial mit einer 1-2%igen Nipaginlösung und einem Netzmittel oder einem der Gebrauchsanweisung entsprechenden, verdünnten Fungizid fein besprühen und so ein Pilz- und Bakterienwachstum teilweise verhindern. Allerdings muß das Wasser nachher restlos verdunsten, was durch Einbringen von getrocknetem Zellstoff gut gelingen soll. Im allgemeinen wirkt diese Methode nur oberflächlich und nicht im Minenlumen oder im inneren Blattgewebe. Diese Methode ist bei sehr hoher Luftfeuchte eher zu empfehlen als in gemäßigten und arktischen Breiten. Geringer Anflug von Pilzhyphen oder Sporangien schadet auch bei überwintertem Minenmaterial nicht.

3.11. Etikettierung des Zuchtmateriales

Alles Zuchtmaterial ist entsprechend zu etikettieren, normalerweise mit der gleichen Nummer wie der dazugehörige Herbarbogen, die Exuvien, die Raupen und so fort. Unbedingt muß die Etikette auf dem Zuchtbehälter und nicht am (verwechselbaren) Deckel angebracht sein. Der Autor verwendet überdies eine Papieretikette mit der Zuchtnummer im Zuchtbehälter selbst, die in das Blattmaterial eingelegt wird. Selbstverständlich ist es die gleiche Nummer wie auf der Außenseite des Zuchtbehälters; doppelt hält besser. In einen Behälter kommt natürlich nur eine Pflanzenart und nur eine Minenform (z. B. nur oberseitige Faltenminen). Die Schrift muß mit Bleistift (Graphitstift) auf Papier geschrieben werden, um eine lange Haltbarkeit zu gewährleisten.

Etikettenbeispiele von Präparaten von Imagines in der Sammlung des Autors:

Alaska, 1 mi N of Haines	Mine in Salix sitchen-	Phyllonorycter
125 m, e.l. 27.8.1981	sis SANSON (Salicaceae)	nipigon FREEMAN
59.11N 135.23 W	Zucht Nr. 2024	(Gracillariidae)
Leg. G. Deschka	Eingetragen am 25.8.1981	Det. G. Deschka

3.12. Zuchtprotokoll

Etwas aufwendiger ist die Führung des Zuchtprotokolls mit einer Nummer für jede Zucht, die dann auch an allen dazugehörigen Tieren, Organen, Präparaten, im Herbarmaterial und so fort aufscheint. Im Zuchtprotokoll wird auch der Fundort (mit den Koordinaten), das Funddatum, die Schlüpfdaten, die Artnamen der Futterpflanze und des Minierers, die Anzahl der geschlüpf-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

ten Imagines, die Parasiten und besondere Daten (Minenbeschreibung, Parasitierungsrate, andere Beschreibungen, Name des Sammlers, Determinationen etc.) vermerkt sind. Die Führung eines Zuchtprotokolles entbindet nicht von einer entsprechenden Etikettierung der Präparate (Imagines, mikroskopische Präparate etc.). Auf diesen sollen aufscheinen: Gattungs- und Artname. Familienname. Fundort (mit oder ohne Koordinaten), Schlüpfdatum, Name des Sammlers. Gattungs- und Artname der Futterpflanze. Familie der Futterpflanze. Sammeldatum der Mine, Nummer im Zuchtprotokoll. Diese Etiketten geben über das Wichtigste Aufschluß und sind heute technisch leicht und schnell herzustellen. Der Autor teilt die Texte auf drei Etiketten auf: Fundortetikette, Zucht- und Minendaten, Determinationsetikette. Sind Mikropräparate angefertigt, kommt noch eine Präparatetikette dazu. Die Genusetikette (Etikette mit dem Geschlechtszeichen) wird nicht gezählt, ist aber bei Tieren, von denen das Abdomen oder das Genitale entfernt wurde, unbedingte Voraussetzung. Im übrigen sollte sie eine Verpflichtung sein, wenn das Geschlecht der Tiere erkannt wurde (Abdomen, Genitale, Sexualdimorphismen, besonders die Frenulumstruktur).

3.13. Minenherbar

Die Führung eines Minenherbars ist ein selbstverständliches Erfordernis. Minierte Pflanzen bzw. Pflanzenteile werden wie Herbarmaterial in Faszikeln getrocknet. Man vermeide eine zu starke Pressung, um die Form der meist dreidimensionalen Minen möglichst zu erhalten. Das ganze wird zeitweise in einem luftundurchlässigen Sack mit einem Insektizid desinfiziert, um alle Insekten abzutöten und nichts zu verschleppen. Die Pflanzen werden entweder mit Pergaminstreifen in einen Herbarbogen eingeklebt oder in transparente Folien gegeben, die wiederum im Herbarbogen befestigt werden. Der Herbarbogen trägt alle Daten, die im Zuchtprotokoll aufscheinen. Oft diskutiert wurde die Größe des Bogens. Der Verfasser empfiehlt zumindest A3 (für den gefalteten Bogen) und eine Mindeststärke des Kartons von 120 g/m2. Leider wurden von den alten Entomologen winzige Herbarformate (A5) verwendet, die oft nicht das aufnehmen konnten, was unumgänglich notwendig gewesen wäre. Viele tropische und subtropische Pflanzen haben sehr große Blätter, in denen sich auch lange Gangminen befinden können (z. B. *Phyllocnistis*-Minen in Magnoliaceen). Diese passen dann nicht in einen kleinen Herbarbogen.

Man lege sich gleich von Anfang an auf ein säurefreies Papier fest, um eine möglichst lange Haltbarkeit seiner wertvollen Sammlungen zu garantieren, eine Maßnahme, die von der älteren Generation leider nicht berücksichtigt wurde oder auch nicht berücksichtigt werden konnte.

Der Aufwand für solche Zuchten ist sehr hoch und die Zuchtmethode für den Anfänger kompliziert und sehr von Erfahrungswerten abhängig. Aber der Erfolg lohnt den Aufwand und ermöglicht eine zeitgemäße Dokumentation.

Es besteht kein Zweifel, daß gezüchtete Schmetterlinge mit entsprechender Dokumentation der subadulten Stadien, der Futterpflanze(n) etc. einen viel höheren Wert – sowohl finanziell als auch wissenschaftlich – darstellen als Adulte, die von Lichtquellen abgesucht, mit Netzen oder ähnlichem gefangen oder gesucht wurden. Die Museen und Institute honorieren unsere aufwendigen Initiativen (noch) nicht. Wahrscheinlich liegt dies an einem geringen Verständnis der Kustoden für Ökologie, Metamorphose, Futterpflanzenpräferenz, spezielle Adaptationen usw.; und mit Sicherheit haben sie nicht Mayrs „Grundlagen der zoologischen Systematik" gesehen.

4. Die Bearbeitung der adulten Schmetterlinge

Immer wieder wird die Präparation von Schmetterlingen von Museumskustoden und Instituten abgelehnt. Meist von solchen Leuten, die nicht fähig sind, einen Schmetterling perfekt und schnell zu breiten. Viele Entomologen finden es nicht wert, ein Insekt zu präparieren und unterscheiden abwertend zwischen Entomologen, die nicht präparieren und Sammlern, die ihre Objekte präparieren und „schöne" Sammlungen anlegen. Eine erstklassige Präparation ist auch

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

heute nicht durch modernste Dokumentationsmethoden zu ersetzen. Das bedeutet, daß alle Schmetterlinge hervorragend präpariert sein müssen, um eine Grundlage für weitere Untersuchungen und Dokumentationen zu schaffen. An nicht planen und gebreiteten Flügeln können die wahren Dimensionen nicht ermittelt werden. Die Flügel müssen in einer Ebene liegen, nicht etwa, weil die begrenzte Tiefenschärfe der angewandten Optik es erfordert, sondern weil sonst die Längen und Breiten nicht zu ermitteln sind. Auch die Dimensionen der einzelnen Organe zueinander (Flügel- und Fühlerlänge) können nur im präparierten Schmetterling einfach ermittelt werden. Nicht einmal das modernste Scannerbild kann über solche Schwierigkeiten hinweghelfen.

4.1. Die Präparation der Imagines

Die Technik der Präparation kleinster Kleinschmetterlinge geht auf CALMBACH (1923) zurück, der die Grundlagen für eine saubere Präparation erstellte, auch wenn man heute manches veränderte. Seit CALMBACH sind viele Publikationen zu diesem Kapitel erschienen: SCHÜTZE (1929) und (1933), KRANCHER (1933), AMSEL (1935), HODGES (1958), EICHLER (1968), SOKOLOFF (1980).

4.1.1. Die Spannbretter

Die Spannbretter (aus Kunststoff, Linden- oder Pappelholz) für Kleinschmetterlinge dürfen keine zueinander geneigten Spannflächen, sondern in einer Ebene liegende aufweisen. In die Rillen (etwa 1, 1,5 und 2 mm) wird weiches Material (Plastazote oder ähnliches) eingeklebt. Sehr gut bewährten sich Spannbrettkästen mit zweimal 5 Spannbrettern zu je 100 mm Länge. Sehr leichtes Holz zum Transport in Flugzeugen und eine weiche Oberfläche (Korkfolie) an den Außenflächen des Spannbrettkastens zum Mildern von Stößen sind nützlich. Die Kästen sollen genau gefertigt sein und dicht schließen, um die Abtötung von betäubten Motten durch Äthylacetat auf einem kleinen Wattebauschen zu ermöglichen. Immer – sowohl auf Reisen als auch wenn die Spannbrettkästen leer sind – sind Streifchen irgendeines Mottenschutzpapieres einzulegen.

Viele Lepidopterologen verwenden einzelne Spannbretter von 100 mm Länge und führen diese in eine Ausnehmung in einem Grundbrett ein und sichern es mit einem Holzkeil (CALMBACH, 1923). Dieses Grundbrett soll genau so dick sein wie die Höhe des Spannbrettes. So lange Brettchen können noch gut in einem Tötungsbehälter untergebracht werden. Früher verwendete man Spannbrettchen mit einer Länge von 50 mm (im allgemeinen haben darauf maximal 7 gespannte kleinste Motten Platz). Auch der Autor besitzt solche noch immer. Diese sind gut verwendbar und passen gut in einen Tötungsbehälter, sind aber zu kurz. Das Präparationsverfahren mit einzelnen Spannbrettchen bewährt sich besonders beim Präparieren im Labor und zu Hause, wo die Brettchen in einer gut schließenden Box aus Kunstoff oder Holz mit Mottenstreifen leicht aufbewahrt werden können. Auf Reisen werden die oben angeführten Spannbrettkästen besser dienen.

Viele Praktiker benutzen nicht mehr Spannflächen aus Weichholz, sondern solche aus Balsa. Gutes, 10 mm dickes Balsa aus ausgesuchtem Material und einer Breite von etwa 30 mm (wegen der Haltbarkeit) sind gut geeignet. Man versuche, dem Insektenkörper adaequate Spannrillen zu schneiden oder auszufräsen und dann keine anderen weichen Steckflächen in der Rille zu benützen. Die Spannflächen sind mit einem Polierpapier zu glätten oder mit einem dünnen (80g/m²), glatten Papier zu kaschieren. Als Kleber hat sich ein etwas dickerer Tapetenkleister bewährt. Schwierigkeiten können beim Fixieren der kleinen Balsabrettchen mit einem Holzkeil in das Grundbrett entstehen, nämlich dann, wenn das Spannbrett durch den Druck verformt wird. All das oben Gesagte gilt für kleinste Schmetterlinge, aber nicht für die relativ großen Blattminierer (etwa Zygaeniden u.a.), deren Präparation ohnehin keine Schwie-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

rigkeiten bedeutet. Auch gewisse kaschierte oder nicht kaschierte andere Kunststoffe eignen sich hervorragend als Spannbretter.

4.1.2. Die Spannstreifen

Als Spannstreifen (ungefähr 1mm) wird am besten Zigarettenpapier verwendet. Das Schneiden der Streifen ist nicht leicht. Der Autor nimmt Lagen von etwa 8 Einzelblättern und schneidet mit einem scharfen Skalpell über ein gut angepreßtes Metallineal. Pergaminstreifen sind ungeeignet.

4.1.3. Nadeln

Als Spannnadel kann eine schwarze Nadel Nr. 000 oder eine auf ein Stäbchen aufgeleimter Minutienstift verwendet werden, je nachdem, ob der Präparator feinste oder gröbere Spitzen vorzieht. Sehr feine Spitzen, besonders solche aus V2A-Stahl, können leicht verbogen werden. Die Nadelspitzen der Metallnadeln sind immer wieder auf eine gerade und feine Spitze zu kontrollieren, um Flügelverletzungen bei der Präparation zu vermeiden.

Am besten zum Nadeln von sehr kleinen Schmetterlingen sind Kakteenstacheln, die man leicht und billig von geeigneten Kakteenarten in jeder gewünschten Stärke und erster Qualität erhält. Am besten kooperiert man mit einem Kakteenzüchter, um das geeignete Material auszusuchen, zu kaufen, zu züchten und in gleichbleibender Qualität für immer zu sichern. Die Mikrostruktur der Oberfläche des Stachels ist für die Aufnahme von Insekten so gut geeignet, daß sie jedes Kunstprodukt bei weitem übertrifft. Außerdem ist eine Korrosion ausgeschlossen.

Für die in dieser Anleitung diskutierten Schmetterlinge werden rostsichere Minutiennadeln der Stärken 020, 015 und 010 benötigt; die britischen Maße sind A1, 2 und A3. Man beachte beim Kauf und bei der Lieferung gewissenhaft die Qualität, besonders die Rundung der Schäfte und die beiden Enden mit einer stark vergrößernden Lupe oder dem Binokular. Nicht runde Minutiennadeln, solche mit unregelmäßig geschnittenen Enden und schlechten Spitzen, werden oft geliefert, sind aber nicht zu verwenden. Um sehr große Kleinschmetterlinge zu spießen und auf Klötzchen zu montieren, kann man auch längere Minutienstifte selbst herstellen, indem man Insektennadeln der Stärke 000 bei etwa 30 mm mit einem Hebelvorschneider oder einem Seitenschneider abschneidet und auf ein stumpfes, nicht breitdrücktes Nadelende achtet. Viele kostbare Insekten werden beim Manipulieren mit schlechten Nadeln zerstört.

4.1.4. Betäubung

Die Tiere werden in Essigäther (Äthylacetat) betäubt oder getötet (KLIMESCH 1968, sein möglicherweise unpubliziertes Manuskript und mündliche Informationen). Chloroform macht die Tiere derart steif, daß eine Präparation erschwert wird. Es sei hier darauf hingewiesen, daß sich nach Meinung des Autors reines Chloroform aus diesem Grund als Tötungsmittel für kleinste Schmetterlinge in Lichtfallen auch nicht bewährt hat. Die hochkonzentrierte Ammoniaklösung 32% (ähnlich dem 880 bzw. 910 ammonia - 880 gm. auf einen ml) stinkt und wirkt so augenreizend, daß der Präparator seine Tätigkeit nicht mehr bewältigen kann. Noch ein Nachteil des hochkonzentrierten Ammoniaks sei erwähnt: Von einer Verwendung in modernen Plastik-Tropffläschchen ist wegen temperaturbedingter Druckschwankungen abzuraten; auch andere Behälter sind kaum besser geeignet. Außerdem verflüchtigt der in Wasser gelöste Ammoniak langsamer als der flüchtige Äther und färbt gewisse Materialien (z. B. Papier, Lignin) gelb oder braun. Allerdings sind die Muskeln der in dieser hochkonzentrierten Lösung betäubten Insekten weich und entspannt, und die Insekten lassen sich leicht präparieren. Die normale Ammoniaklösung 25% wurde vom Autor nicht erprobt, dürfte aber ähnliche Ergebnisse mit langsamerer Wirkung liefern. Zumindest ist sie zur vorübergehenden Betäubung von kleinsten Insekten zur folgenden Fotografie ganz gut zu gebrauchen, besonders deswegen, weil sie aus

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

dieser Betäubung wieder aufwachen. Von Zyankali ist wegen seiner starken Giftigkeit abzuraten. Der Autor warnt vor dem Gebrauch von Zyankali in dünneren Gläsern, die normalerweise für kleinste Insekten verwendet werden, wegen der erheblich leichteren Zerbrechlichkeit. Vor einem Transport von Zyanverbindungen in Flugzeugen wird abgeraten. Als Tötungsgläser verwende man nicht die handelsüblichen Gläser für große Insekten, sondern dickwandige Glasröhrchen von 20-28 mm Innendurchmesser und einer Länge, die 100 mm nicht überschreiten soll. Der Boden kann flach oder ausgebuchtet sein, je nach dem Wunsch des Präparators. Als Verschluß kommt nur ein spaltlos sitzender Korkstöpsel in Frage, in den mit einem Korkbohrer ein Loch von etwa 8 mm Durchmesser zur Aufnahme von Zellstoff gebohrt wird. Dort kann man dann etwa 5-8 Tropfen des Betäubungsmittels einbringen. Ammoniak greift nach langem Gebrauch den Kork an. Man kann aber auch das flüssige Betäubungsmitel auf eine Gipseinlage am Boden des Glasröhrchens als auch auf den Zellstoff im Korken auftropfen. Damit gelingt eine sehr rasche Verteilung des betäubenden Luftgemisches.

4.1.5. Tötung

Wenn man die betäubten Motten präparieren will, so lasse man sie so lange im Tötungsglas, bis sie sich nicht mehr bewegen; dann gebe man noch 10 Sekunden dazu und beginne mit der Präparation. Selbstverständlich dürfen die Tiere nicht mehr aus der Betäubung erwachen, was einem guten Praktiker ausnahmslos gut gelingt. Nach Abschluß der Präparation werden die Spannbrettchen mit den Tieren in einen Tötungsbehälter eingelegt. Als solcher ist u. a. ein Glas mit einem Glasdeckel, der über einen Gummiring verschlossen wird (Rexgläser), recht gut geeignet. Die Flüssigkeit zur Tötung kann auf einen Bausch am Boden des Glases oder am Deckel eingebracht werden. Zwischen der Plazierung oben oder unten ist ein wesentlicher Unterschied beim Gebrauch (Lüftungsverluste, Wirkung auf die Tiere, Abfall wegen des höheren spezifischen Gewichtes bzw. der „Äthersee" am Boden). Aber auch andere, eckige Behälter, die einigermaßen gut schließen, sind brauchbar. Der Autor hat früher gedrechselte, runde Holzbehälter mit dicht schließenden Deckeln recht erfolgreich verwendet, wenn die Falze mit Bienenwachs gedichtet wurden. Im Tötungsbehälter kann das Spannbrett auch längere Zeit ohne irgendwelche Schäden am Insekt auf dem Brett bleiben, wenn man kein Ammoniak verwendet.

4.1.6. Das Spannen

Dann werden die Objekte auf einer Steckunterlage mit Hilfe einer kleinen, 10fachen Lupe genadelt, was einige Übung erfordert. Die Minutiennadel wird dabei in einer Pinzette (entweder eine Steckpinzette oder eine spitze Pinzette mit steifer oder versteifter Spitze) gehalten.- Getötete Tiere werden kurze Zeit in der Weichdose (siehe unten) aufgeweicht und dann genadelt und präpariert.

Die Motten werden wie andere Schmetterlinge präpariert, wobei die Nadel möglichst normal (allseits in einem Winkel von 90°) zur Präparationsebene zu bringen ist. Der Hinterrand des Vorderflügels steht etwa normal zum Körper, die Fühler – auch wenn sie besonders lang sein sollten – sind parallel zum Vorderflügelrand auszurichten. Die Flügelfransen sollen möglichst natürlich verteilt und nicht gescheitelt sein. Wenn eine optimale Ausrichtung erreicht ist, soll die ganze Flügelfläche mit einem Papierstreifen verdeckt und dadurch geebnet und fixiert werden.

In vielen, auch modernen Präparationsanleitungen, wird immer wieder das „Blasen" der Flügel zur Breitung empfohlen. Man bläst dabei die auf dem Spannbrett befindliche Motte von hinten an, wobei sich die Flügel nach vorne, also möglichst in eine günstige Lage, bewegen sollen. Diese Methode kann zu einer vorläufigen, provisorischen Breitung angewendet werden; aber immer wieder wird man mit der Präparationsnadel nachhelfen müssen. Der Autor beschränkt diese Technik nur auf eine vorläufige Breitung der Flügel und verzichtet bei der folgenden

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Ausrichtung der Fühler, der Beine und der Flügel auf das „Blasen" und präpariert weitestgehend mit der Präparationsnadel.

4.1.7. Ratschläge zur Präparation

Es ist selbstverständlich, daß beim Spannen nur rostsichere Spannstifte und nicht die groben Stecknadeln, die die Spannflächen der Brettchen ruinieren, verwendet werden. Spannstifte kontrolliere man beim Kauf auf geeignete, feine Spitzen. Die Arbeit mit Spannstiften kann mit einer starken, spitzen Pinzette oder mit einer Steckpinzette verrichtet werden. Wer kleinste Schmetterlinge präpariert und ganz besonderen Wert auf eine glatte Spannfläche, die Jahrzehnte halten soll, legt, kann auch Minutien 020 statt der Spannstifte verwenden – eine überlegte Empfehlung für Anfänger, die solche Techniken von Anfang an idealerweise praktizieren sollen.

Die Präparationsvorgänge erleichtert man sich durch die Verwendung einer Stirnlupe oder einer Stativlupe (beide bei kleinen Tieren 3,0-3,5x). Beide haben ihre Vorteile; für Brillenträger ist die Stativlupe vielleicht die bessere Variante. Man berücksichtige, daß die Stirnlupe so geräumig ist, daß darunter Brillen Platz finden, auch wenn man (noch) nicht Brillenträger ist. Durch das Tragen von Brillen unter der Stirnlupe können verschiedene Dioptrien der Augen ausgeglichen werden. Bei Verwendung einer Stativlupe ist die Kopfhaltung nicht immer angenehm und sicher ungesund. Aus optischen Gründen soll die Stativlupe ungefähr parallel zur Spannfläche ausgerichtet sein, zumindest ist nur eine sehr geringe Neigung empfehlenswert. Der Kopf des Präparators ist dann so ausgerichtet, daß die Mitte des Augenabstandes genau über dem Zentrum der Präparierlupe liegt. Das ist eine für die Halswirbelsäule nicht gesunde und im Alter nicht schmerzfreie Haltung. Trotzdem ist es andrerseits angenehm, wenn man nicht von einer Stirnlupe belastet ist, die das Betrachten weiter entfernt liegender Utensilien nicht gestattet. Eine geneigte Ausrichtung des ganzen Spanntisches hat der Autor nicht erprobt. Man berücksichtige, daß unter solchen Umständen alle Präparationsgeräte wegrollen können. Vielleicht ist eine ideale Lösung zur Verwendung einer Stativlupe eine leichte Neigung nur jener Fläche, die als Unterlage für das Spannbrettchen gebraucht wird, also nur ein breiter „Keil"; denn nur diese Fläche braucht vergrößert zu werden.- In jedem Fall ermittle man mit besonderer Sorgfalt den richtigen Abstand der Stativlupe vom Objekt, um Adaptionsschwierigkeiten des Auges zu vermeiden.

Anfänger sind oft vom Zittern der Finger oder der Hand sehr gestört. Der Präparator soll eine etwas höhere Sitzfläche als der Leser oder Schreiber verwenden. Dann gelingt es, sich leicht über das zu präparierende Objekt zu beugen und besonders auf der Tischfläche zu „lümmeln", das heißt, sehr bequem sowohl die Unterarme als auch die Handfläche aufzusetzen. Dann wird auch das ärgste Zittern vermieden. Ganz besonders wertvoll ist dieser Trick bei der Präparation unter dem Stereomikroskop; für diese Geräte können meist auch bequeme Arm- und Handauflagen geliefert werden. Starkes Zittern kann dann entstehen, wenn der Präparator eine Hungerperiode durchmacht oder starken Kaffee getrunken hat.

Besonders achte man auf eine adäquate Beleuchtung: Ausreichende Lichtintensität, die mit dem Alter des Präparators schritthalten soll, eine richtige Lichtqualität (Wellenlänge) und eine Abschirmung von direkter Strahlung auf die Augen des Betrachters. Niedervoltlampen scheinen derzeit die beste Lösung zu sein. Vor allem sei gewarnt vor schattenlosem Streulicht und natürlichem Sonnenlicht; beide schädigen die Sehkraft. Der Autor besitzt eine sehr große, schwere, für das Makroskop konstruierte Tageslichtquelle über Glasfaserkabel. Dieses umständliche und teure Monstrum ist natürlich eine ideale Beleuchtung auch für das Präparieren.

Eine beträchtliche Zahl älterer Entomologen hat unter dem Stereomikroskop (bei ganz geringer Vergrößerung von etwa 5-10x, jedoch hoher Vergrößerung im Vergleich zur Stirn- oder Präparierlupe) gearbeitet. Diese Art erfordert eine solide Halterung für das Spannbrett. Es sei erwähnt, daß diese Leute eine sehr gute Qualität der Präparate erzielten und auf jedem Fall die Augen und die Wirbelsäule kaum belasteten.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Immer wieder klagen Präparatoren über heftige Augenschmerzen bei der Verwendung verschiedener optischer Hilfsmittel in der Entomologie. Jede Belastung der Augen kann mit den modernen, guten Instrumenten vermieden werden, wenn die Geräte richtig eingestellt und verwendet werden. Der Verfasser rät zu folgendem: Peinlich genaues Studieren und Befolgen der Gebrauchsanleitung, Einholen von Auskünften beim Erzeuger des Gerätes, Grundkurs in der Mikroskopie, Nachfragen bei erfahrenen Praktikern, die die Materie wirklich beherrschen. Unbedingt muß vor dem Gebrauch eines optischen Gerätes die Einstellung eines Fernglases und die Installation einer Beleuchtung (Durchlichtbeleuchtung) beherrscht werden. Die Köhlersche Beleuchtung (Standardeinstellung der Mikroskopbeleuchtung) ist eine Grundvoraussetzung für den Gebrauch eines Durchlichtmikroskopes. Gewisse Kenntnisse über Lichtwellen, Beleuchtungsgeräte, Streulicht, Reflexion und vieles andere sind für einen Entomologen unbedingtes Rüstzeug. Irgendwelche gesundheitliche Schäden als Folge des Gebrauches von optischen Geräten sind in jedem Fall vermeidbar, und keineswegs sind das höhere Alter des Entomologen oder seine (geringe) Sehkraft oder das Alterszittern als Ausrede für schlechte Leistungen zu tolerieren.

Professionelle Entomologen soll(t)en fähig sein, den Amateuren als Vorbild und Berater jederzeit zur Seite zu stehen. Ideal wären entsprechende Kurse und Seminare für eine schwierige entomologische Arbeit und besonders für die Labortätigkeit. Hier wäre noch viel zu tun. Es würde sich für die öffentlichen Institutionen wirklich lohnen, denn sie sind es, die die Früchte der Amateurleistungen einmal erben oder zumindest für einen Pappenstiel erwerben.

Auf größere Reisen kann man eine leichte provisorische Lampe mitführen, die einem zumindest mit einer halbwegs günstigen Lichtintensität unter Abschirmung der Augen versorgt. Es ist enttäuschend, daß meist nicht einmal Hotels der Luxusklasse über eine ausreichende Tischbeleuchtung verfügen. Die Unterkünfte, die normalerweise von Entomologen besucht werden (müssen), ausgenommen Institutseinrichtungen, haben solchen Beleuchtungsluxus selbstverständlich nie. Zu berücksichtigen ist die in den verschiedenen Ländern unterschiedliche Stromspannung.

Die Präparation kleiner Motten ist schwierig und bedarf einer langen Übung. Unbedingt beginne man mit größeren Tieren und gehe nach und nach auf immer kleinere über. Auch der Autor hat sogar jetzt noch beträchtliche Probleme mit der Präparation kleinster Motten, wenn dies auf Expeditionen und Reisen gemacht werden soll.

4.2. Trocknung

Für eine schnelle Trocknung gespannter Imagines gibt es ein Verfahren mit einem luftdichten Behälter bei 70° C und Silikagel. Darin sind die Insekten innerhalb 12 Stunden staubtrocken, was die Brüchigkeit erhöht, aber auf Exkursionen die Mitnahme von vielen Spannbrettkästen erspart. Besonders gut bewährt sich diese Trocknungsmethode bei hoher Luftfeuchtigkeit, in tropischen Zonen und in Gebieten mit sehr hohen Niederschlägen. Silikagel muß selbstverständlich in einem vollkommen dichten Behälter mitgeführt werden. Das Entwässern von Silikagel erfordert hohe Temperaturen, und das sind Bedingungen, die man auf Reisen nicht immer bieten kann. Im allgemeinen sind die kleinen Insekten in normaler Luftfeuchte in zwei Wochen gut trocken und können abgenommen werden. Der Autor überschreitet diese Zeiten um ein Vielfaches und spannt erst nach Monaten ab, was mehrere Spannbrettkästen erfordert.

4.3. Montage

Die Präparate werden auf Klötzchen gesteckt, die wiederum mit rostsicheren Nadeln Nr. 1 genadelt werden. Die Klötzchen bestehen aus säurefestem, feinporigem Schaumstoff (Plastazote etc.) und sollen nach Möglichkeit vom Präparator selbst zugeschnitten werden, um eine besondere Genauigkeit und entsprechende Größe zu garantieren. Alle anderen Materialien, wie Birkenschwamm- (=*Polyporus*-), Sonnenblumen- bzw. Holundermarkklötz-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

chen, sog. Wickelstege (CALMBACH 1923) und Aufklebeplättchen jeden Materiales sind obsolet und unbrauchbar. In alten Sammlungen sind solche Materialien noch zu finden, und man braucht besondere Vorsicht und viel Geschick (=Glück), um die Insekten von solchen veralteten Klötzchen wieder ohne Beschädigung abzumontieren. Holundermark- und Sonnenblumenklötzchen sind überdies hygroskopisch. Genaue Montage am Klötzchen und gute Nadelung garantieren ein sauberes Präparat. Es gibt käufliche Montagehilfen, oder man kann sich solche selbst basteln. Der Autor benützt zur Montage des genadelten Insekts auf dem Klötzchen eine gewöhnliche Wäscheklupe mit planen Innenflächen. Auch zur genauen Messung einer gleichen Höhe der Schmetterlinge auf der Trägernadel gibt es käufliche Hilfen oder besser selbstgebastelte. CALMBACH (1923) empfiehlt eine Höhe des Insektes von 23 mm.

Niemals ist mehr als ein Tier auf einem Klötzchen zu montieren, obwohl dies auch in neuen Anweisungen empfohlen wird. Bei der Abnahme eines Tieres und Überführung in einen anderen Behälter fehlt dann die Originaletikette, ein meist nicht mehr kompensierbarer Nachteil und oft eine Ursache für Verwechslungen. Jedes Tier besitzt eine eigene Etikette und ist mit dieser durch die Trägernadel verbunden.

4.4. Besondere Hinweise

Die Präparation im Freien erfordert oft die Anwendung eines Insektenrepellents als Insektenschutz für den Präparator, welches aber nie das Zuchtmaterial beeinflussen darf. Daher größte Vorsicht und – wenn möglich – die Hände nach dem Auftragen oder -sprühen waschen.

Die unvermeidliche Präparation auf Reisen – im Zelt, auf Nachtkästchen oder wackelnden Tischen, auf Klosettdeckeln, in Kälte oder Hitze, in Schwärmen von Moskitos, bei schlechter Beleuchtung – ist ein Kapitel, dessen Schilderung der Autor einem Anfänger nicht zumuten will. Für die Präparation bei Kälte, im Freien und in arktischen Gebieten: Eine Korkeinlage auf den metallischen Stirnreifen der Stirnlupe mit einem Kontaktkleber aufkleben, um Verkühlungen der Stirn (Nebenhöhlen!) zu vermeiden.

4.5. Entölen

Bei blattminierenden Schmetterlingen kann es nur sehr selten zu einem Verölen des Körpers kommen. Das Öl kann vom Abdomen in den übrigen Körper und die Flügel infiltrieren. So weit soll es aber nicht kommen, da die Flügel durch das Öl die bei der Präparation gegebene Lage verlieren. Daher soll gleich beim Bemerken der ersten Ölflecken am Abdomen entölt werden. Zum Entölen stehen einige verschiedene Entfettungsmittel zur Verfügung: Schwefeläther, Chloroform, Leichtbenzin 90 (=Wundbenzin guter Qualität), Nitroverdünnung. Schwefeläther hat folgende Nachteile: Brennbar bis explosiv, schwer narkotisierend und daher gefährlich, stinkend und im geschlossenen Raum nur mit einem Abzug zu benützen. Das Mittel löst die Schrift der lasergedruckten Etiketten. Der Vorteil des Schwefeläthers liegt in der geringen Verdunstung in einem hohen Behälter (hohes spez. Gewicht) und in seiner guten Fettlösung. ORTNER (1946) verwendet ausnahmslos Schwefeläther. Leichtbenzin 90 stinkt weniger, ist nicht narkotisierend, aber auch brennbar bis explosiv. Die Löslichkeit von Fett im Benzin ist gut. Laserdrucke werden nicht gelöst. Selbstverständlich ist Autobenzin nicht zu verwenden. In neuerer Zeit hat sich Chloroform immer mehr durchgesetzt. Es ist stark narkotisierend, sehr schwer und stinkend. Sein Vorteil liegt in seiner hervorragenden Fettlöslichkeit und in seinem hohen spezifischen Gewicht, das die Verdunstung in der ruhigen Atmosphäre eines Labors vermindert. Für einen entsprechenden Luftabzug während der Arbeiten ist trotzdem zu sorgen. In manchen Ländern ist Chloroform sehr billig. Perchloraethylen oder gar Trichloraethylen entölen hervorragend, sind aber wegen ihrer kanzerogenen, penetranten Eigenschaften unbrauchbar. Nitroverdünnung ist in ihrer Zusammensetzung nicht genormt und daher verdächtig. Der Autor hat sie mit gutem Erfolg bei großen Insekten verwendet. Zum Aufsaugen des Lösungsmittels eignen sich folgende feine Stäube: Meerschaumpulver (geringes spezifisches

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Gewicht und hervorragend saugend, leider sehr teuer), pulverisierte Schulpen der Sepia (gut saugend, höheres spez. Gewicht, die Korngröße leider nicht immer zufriedenstellend, billig), Boluspulver = Tonerdesilikat (billig, gut saugend, schwer), unbedingt reiner Talkumpuder (sehr geringe Korngröße, die Saugbarkeit wurde vom Autor nicht geprüft, billig). Feinstes Sägemehl ist für kleine Insekten wohl zu grob. ORTNER (1946) rät vom käuflichen (sehr feinkörnigen) Pulver ab, da sich dieses aus dem Schuppenkleid der Tiere schwer entfernen lasse; empfiehlt aber z.B. grobkörniges Meerschaumpulver, das man sich im Mörser aus Abfällen, die bei der Herstellung von Meerschaumpfeifen anfallen, selbst herstellen kann. Da die Meerschaumpfeifen angeblich nicht mehr bei uns gefertigt werden, wird das Beschaffen der Abfälle schwierig sein. Der Autor verwendete mit gutem Erfolg feine Stäube für sehr kleine Schmetterlinge, allerdings ist langes und sorgfältiges Entölen eine Grundvoraussetzung für die mühelose Entfernung der absorbierenden Stäube.

Die öligen Tiere werden mit der Nadel, aber ohne die Etiketten, in die Flüssigkeit gegeben, die man in einer flachen Schale vorbereitet hat und darin schwimmend oder tauchend mindestens 12 Stunden ruhig belassen. Wenn möglich, entferne man das Klötzchen. Birkenpilzklötzchen sind schwer entfernbar. Dann werden die Objekte herausgenommen und auf einen mit einem Papier belegten Spannklotz gesteckt und sofort mit dem Absorptionspulver, das von einem dicken Haarpinsel aus aufgestaubt wird, von der Unterseite her bedeckt. Man wende nun das Objekt und bestaube gleichermaßen von der Oberseite. Diese Methode muß wegen des raschen Verdunstens des Lösungsmittels möglichst schnell durchgeführt werden; daher bereite man alle Utensilien schon vor Beginn der Arbeit vor. Die Objekte müssen gut trocknen (mittelgroße Tiere etwa 60 Minuten, kleinere entsprechend weniger), und dann wird das Pulver durch Bewegen oder leichtes Erschüttern des Tieres grob entfernt. Schließlich kann man die letzten Pulverreste mit einem feinen Pinsel (nach Möglichkeit ein feiner Marderhaarpinsel) vorsichtig entfernen, eventuell soll das Präparat zu diesem Zeitpunkt auf dem Klötzchen montiert und die Etiketten sollen wieder angesteckt sein. Die Pulverreste können nach Abschluß der Arbeit mit Hilfe des aufgelegten Papieres wieder in den Behälter zurückgeleert und mehrmals verwendet werden. Bei dieser Methode und besonders bei der empfohlenen Lagerung in der Entfettungsflüssigkeit beachte man alle Vorsichtsmaßnahmen beim Hantieren mit leicht brennbaren Flüssigkeiten. Die Behälter müssen während der Expositionszeiten mit einem nicht brennbaren Deckel bedeckt werden. Der Behälter muß ruhig und frei aufgestellt sein und darf nicht in der Nähe von warmen oder heißen Gegenständen oder elektrischen Leitungen gelagert werden. Irgendwelche Trocknungsgeräte (Kohlefadenlampen etc.) sind unnötig und feuergefährlich.

Einige Praktiker entfetten auf die oben beschriebene Weise, verwenden aber nachher keinen absorbierenden Staub. Mit dieser vereinfachten Methode kehren die langen Fransenschuppen („Haare") nicht immer in die ursprüngliche Lage zurück, sondern verbleiben in jener Lage, in der sie durch die Adhäsion des (flüssigen) Fettlösungsmittels gebunden waren. Nur durch Abpinseln kann eine nur teilweise und unvollständige Wiederherstellung erreicht werden. Diese Methode ist bei allen Schmetterlingen abzulehnen.

ORTNER (1946) empfiehlt, schon den öligen Schmetterling dicht mit Meerschaumpulver zu bestreuen und erst nachher das Lösungsmittel aufzuträufeln, trocknen zu lassen und dann das Pulver zu entfernen. Diese Methode wurde vom Verfasser nicht erprobt.

Sehr große und dickleibige Arten, die unter den Blattminierern nicht zu finden sind, können nach dem Töten durch eine genau dosierte Leichtbenzininjektion in den Hinterleib vom Öligwerden bewahrt werden. Außerdem wird damit das Schrumpfen des Abdomens verhindert. Injiziert man zu viel, wird der Hinterleib zu sehr aufgebläht, erwischt man zu wenig, wird das Tier früher oder später ölig. Dieses vom Verfasser oft praktizierte Verfahren wird trotzdem nicht empfohlen, da der Präparator genau abschätzen muß, wieviel er injizieren soll, und dies bedarf einer entsprechenden Erfahrung, die eben nur aus einer entsprechenden Praxis mit vielen mißlungenen Objekten erworben werden kann.

SCHÜLLER (1961) verwendet zum Entölen von wahrscheinlich größeren Schmetterlingen ausnahmslos die in der Zusammensetzung variierende Nitroverdünnung (=Verdünnung für Nitro-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

lacke; ein variables Gemisch von Estern und Acetaten), gießt davon eine einige Zentimeter tiefe Menge in ein weites Glas und legt die Tiere mit der Nadel hinein. Am nächsten Tag entnimmt man die Objekte dem Bad, läßt sie abrinnen und steckt sie in eine Schachtel mit feinkörnigem Buchen-Sägemehl ein, daß sie mit der Unterseite der Flügel am Sägemehl aufliegen. Dann wird die Oberseite des Tieres mit Sägemehl bedeckt und das Insekt einige Stunden getrocknet. Schließlich wird das Tier durch Abklopfen, Bewegen der Nadel oder mit einem Pinsel vorsichtig vom Sägemehl gereinigt. Diese Methode bewährt sich gut bei größeren Tieren, für kleinere empfiehlt der Autor ein feineres Pulver der oben genannten Art anstelle des groben Buchen-Sägemehles. Die anderen Lösungsmittel entsprechen sicher ebenso wie die von Schüller so sehr gelobte Nitroverdünnung und sind heute, nach mehr als drei Jahrzehnten nach der Publikation Schüllers, auch erschwinglich.

Die uralte Händlermethode, nämlich Schmetterlingen, „von denen man das Öligwerden erwartet", schon am Spannbrett eine entsprechende Menge Meerschaumpulver auf den Hinterleib zu stauben und während des Trocknens darauf zu belassen, zeigt keinen nachhaltigen Erfolg und ist obsolet.

Nur Tiere mit endophager Lebensweise der Raupen (und Puppen) (Tineiden, Cossiden, Hepialiden und einige andere) verölen so stark, daß ein zweites Mal (oft erst nach Jahrzehnten) auf die gleiche Weise entölt werden muß. Lange Einwirkung des Lösungsmittels (viele Stunden) erspart fast immer ein zweites Entölen.

Entölte Tiere sind sehr brüchig und daher vorsichtig zu behandeln.

5. Die Bearbeitung der subadulten Stadien

5.1. Eier und Raupen

Eier und Raupen werden in 70% Alkohol konserviert und können darin verbleiben. Um Schrumpfungen zu vermeiden, arbeitet man mit einer Alkoholreihe und beginnt mit 40%. Eine besondere Streckung erzielt man bei Larven durch Aufkochen in Wasser (unumgänglich bei Untersuchungen der Chaetotaxie kleiner Larven). Auch hier ist die Alkoholreihe anzuwenden. Alkohol verdunstet schnell, daher verwendet man kleine, gut schließende Präparategläschen aus Glas und legt diese nach Etikettierung (Schriftseite nach außen) in ebenso gut schließende, größere Behälter mit Alkohol gleicher Konzentration. Wer dennoch der Haltbarkeit dieser Präparate mißtraut (Flüssigkeitsverlust durch Verdunstung), kann in Glyzerin konservieren, muß aber dieses bei feineren Untersuchungen mit Wasser auswaschen, eine Alkoholreihe einschalten und in einen optischen Aufheller bringen, wo man dann unter günstigeren optischen Bedingungen beobachten kann. Dieser Vorgang braucht lange Expositionszeiten. Selbstverständlich kann später auch eingebettet oder mit einer anderen Methode fortgesetzt werden. Fixierungsgemische sind im allgemeinen nur für Schnitte notwendig.

Die geringe Transparenz von größeren Insektenlarven ist ein besonderes Problem. Man kann eine halbwegs zufriedenstellende Transparenz mit verschiedenen Methoden erreichen. Für die im Kapitel Mazeration beschriebene Methode öffnet man den Larvenkörper durch einige Einstiche und mazeriert kalt oder heiß. Die Raupe besteht dann nur mehr aus ihrem Integument und wird nicht mehr durch die Innenorgane gestützt. Sie fällt zusammen, Ober- und Unterseite liegen unmittelbar aufeinander. Die Untersuchung wird dabei wesentlich erschwert. Für die Chaetotaxie und eine Untersuchung der Beine und Scheinfüße ist diese Methode trotzdem recht praktikabel. Frisch getötete Larven kann man in hochprozentiges Karbol einlegen und nach kurzer Zeit eine gute, aber nicht vollkommene Transparenz erzielen. Die inneren Organe werden dabei erhalten, und der Körper wird von ihnen gut gestützt. Für gröbere Untersuchungen ist dies eine praktikable und schnelle Methode. Soll in Genitase mazeriert werden, so muß der Larvenkörper durch Einstiche geöffnet werden. Das Ergebnis ist nicht besser als die Kalilauge-Methode.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Schwierigkeiten ergeben sich bei allen Methoden der Mazeration durch die Füllung des Verdauungstraktes mit Zellulosematerial, Spongin oder Lignin, welche nicht mazeriert werden. Oft muß der Darminhalt auch noch entfernt werden, was eine besondere Geschicklichkeit des Präparators erfordert. Bei Insektenparasiten an Vertebraten (Läusen, Flöhen, Wanzen, Federlingen) kann die undurchsichtige Blutfüllung des Verdauungstraktes durch die Eisenatome im Hämoglobin die gleichen Schwierigkeiten bereiten wie die Zellulose bei Blattminierern. Hämoglobinreste müssen fast immer mechanisch entfernt werden.

Man kann Larven nach der Streckung in heißem Wasser und einer Alkoholreihe von etwa 40% bis zur gewünschten Endkonzentration in einen starken optischen Aufheller bringen; es resultiert eine gewisse Transparenz, ganz befriedigend ist allerdings diese Präparation auch nicht. Die Alkoholreihe ist unbedingt einzuhalten, und die Tiere mehrere Tage in den einzelnen Konzentrationen zu belassen, da sonst eine dunkle Verfärbung der Objekte oder eine Schrumpfung eintreten können.

Wirklich gute Resultate ergeben die SEM (=Raster-Elektronenmikroskop) - Abbildung nach einer gründlichen Exsikkation und den entsprechenden Oberflächenbehandlungen. Aber Totalpräparate größerer Objekte sind meist zu groß für den Scanner und können nur mit zwei Fotos bewältigt werden.

Teile des Larvenkörpers (der Kopf, der Thorax, die Beine und die Scheinfüße) eignen sich hervorragend als lichtmikroskopische Objekte und können sowohl in visueller Betrachtung als auch durch die Fotografie gut dargestellt werden. Sie werden etwa wie die Genitalien behandelt und dann eingebettet.

5.1.1. Fotografie

Manche Raupen von Blattminierern können lebend oder frisch getötet mit dem Makroskop oder „Stereomikroskop" (richtig wäre das wenig gebrauchte Wort Stereolupe) unter Berücksichtigung eines möglichst optimalen Kontrastes ganz gut beobachtet oder fotografiert werden. Die Fotografie ist natürlich nur über einen Strahlengang möglich und nicht „stereo" (räumlich). Mit dem Makroskop gelingen auch ganz gute Fotos in das Lumen einer geöffneten Mine, vorausgesetzt eine gute Ausleuchtung mit zwei Lampen oder mit einer Lampe und Streulicht. Solche Bilder sind wegen des Kontrastes in Farbe wesentlich leichter zu bewältigen als in Schwarzweiß. In jedem Fall ist eine intensive Beleuchtung ohne Erhitzung der Objekte erforderlich, was immer einen besonderen Aufwand bedeutet.

Man beleuchte mit Kaltlicht, um das Tier nicht zu stören. Glasfaserleuchten mit oder ohne entsprechende Vorsätze sind ideal. Blitze sind bei sich bewegenden Tieren sehr geeignet, aber man berücksichtige, daß man bei Blitzaufnahmen nicht weiß, welche Ausleuchtungen letztlich entstehen. Der Autor verwendet eine sehr aufwendige Leuchte mit drei Glasfaserkalbeln und benützt dabei Kalt-, Tages- und Niedervoltlicht. Jede dieser Lichtarten kann schnell durch einen sehr starken Blitz ersetzt werden. Das heißt, man kann die Ausleuchtung visuell einstellen und schließlich durch einen Blitz ersetzen. Daher kann man die Ausleuchtung des Objektes unmittelbar vor der Aufnahme kontrollieren.

Auch bei sehr unruhigen kleinen Insekten (Parasitoide) bewährt sich diese Methode, insbesonders auch dann, wenn sehr viel Licht und eine kleine Blende notwendig sind.

5.2. Puppen

Frische Puppen werden nach Exsikkation trocken in kleinsten, auf Insektennadeln Nr. 1 genadelten Gelatinekapseln aufbewahrt. Bei allen Methoden der Exsikkation müssen gewisse Schrumpfungen erwartet werden.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Exuvien, die sich für die meisten Untersuchungen hervorragend eignen, werden in Gelatinekapseln aufbewahrt. Die Kapseln können genadelt und etikettiert neben die Präparate der Imagines in die Sammlung gesteckt werden.

Alle Exuvien kann man normal mazerieren (auch wenn „nichts" zum Mazerieren vorhanden ist). Es werden dabei Schuppen und eventuell Mekonium und die oft in der Überwinterung auftretenden Pilzsporen herausgewaschen und die Häute erweicht. Nach einem gründlichen Wässern verwende man Eisessig und bei sehr starker Sklerotisierung auch Trichlor-Essigsäure für kurze oder längere Zeit. Nach dem Wässern führe man in hochprozentiges Aethanol über, verwende einen starken optischen Aufheller (am besten Nelkenöl oder Methylbenzoat) und schneide die Flügel- und Beinscheiden und den Kopf ab. Diese Organe sind für die meisten Untersuchungen entbehrlich. Sollten sie dennoch gebraucht werden, kann man sie separat einbetten. Für sehr eingehende Untersuchungen, besonders über Größenverhältnisse der einzelnen Organe zueinander, ist aber das Entfernen einzelner Organe keineswegs zu empfehlen. Dann führe man in das Lösungsmittel des Einbettungsmittels über und bette in dorsoventraler oder lateraler Lage in einem winzigen Tropfen Einbettungsmittel ein, lasse das Präparat unter einem Uhrschälchen trocknen und schließe dann unter einem Deckgläschen endgültig ein. Diese Methode des Entfernens weniger interessanter Organe ist neu und hat folgende Vorteile: Für fotografische Dokumentation besonders geeignet, da weitgehend keine unnötigen Sklerotinschollen übereinanderliegen. Die Transparenz ist hervorragend. Der Kremaster kann gut untersucht und abgebildet werden. Der Nachteil liegt in der Anfertigung eines zweiten Präparates für die abgeschnittenen Teile oder der Verlust dieser, wenn sie weggeworfen werden.

Die hier beschriebene Methode der Sektion und der Einbettung in einer bestimmten Position hat auch ihre Ausnahmen. So sind einige Strukturen auf den Flügelscheiden einiger Leucopterinen und Bucculatriciden eine Untersuchung wert; auch Bedellia-Puppen haben interessante Bildungen auf vielen Teilen der Puppe. Bei mehreren Arten der Bucculatricidae, Gracillariidae, Lyonetiidae müssen auch die Flügel- und Kopfteile berücksichtigt werden.

Exuvien sind besonders leicht mit dem SEM (=Raster-Elektronenmikroskop) zu untersuchen, da keine Exsikkation benötigt wird. Allerdings zeigt das sehr eindrucksvolle SEM-Bild kaum mehr als das lichtmikroskopische.

6. Exkursionsmaterial

6.1. Breiten, Tieffrieren

Wenn auf Exkursionen die Gelegenheit zu einer ordentlichen Präparation (wie auf Seite xxx ff. beschrieben) fehlt, breiten viele Entomologen die Imagines. Dabei werden die Motten genadelt und so in die Steckunterlage gesteckt, daß die Körper die Unterlage (fast) berühren. Die Fühler und Flügel werden seitlich hochgezogen und in eine möglichst plane Lage gebracht. Wichtig ist dabei der Kontakt mit der Unterlage (AMSEL 1935 und KLIMESCH 1968). Die Tiere können nun tiefgefroren, so transportiert und dann im Labor kurz aufgeweicht und weiter präpariert werden. Ist keine Möglichkeit des Tieffrierens vorhanden, wird das Material getrocknet und erst im Labor wieder (länger) aufgeweicht. Bei extremer Luftfeuchte verwende man eine Trocknungsmethode – Sonnenlicht für kurze Zeit, Kohlefadenlampen, warme Luft über Heizungen, Silikagel – und, wenn all dies nicht möglich ist, zumindest 4-Chloro-3-Methylphenol zur Vermeidung von Schimmel.

Für kurze Zeit können die Schmetterlinge auch in einem Kühlschrank weichgehalten werden. Auf jedem Fall müssen auch sie vor der Präparation zumindest für kurze Zeit in die Weichdose.

Sehr kleine Insekten wie die Blattminierer können tiefgefroren werden; die Tiefkühlung darf sich aber nicht über längere Zeit erstrecken, da sonst das Objekt trocknet. Die Tiefkühlkette darf bis zur Präparation nicht unterbrochen werden.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

7. Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung bedarf einer ziemlich komplizierten und aufwendigen Apparatur, die – einfach erklärt – unter sehr tiefer Temperatur und beträchtlichem Unterdruck jede Feuchtigkeit entzieht. Die meisten Präparate behalten ihre natürliche Farbe, schrumpfen nicht oder kaum und können auch im gefriergetrockneten Zustand lebensnah fotografiert oder ohne Exsikkation einer SEM-Vorbereitung zugeführt werden. Für Raupen scheint dies eine sehr praktikable Methode der Konservierung und Präparation zu sein, sieht man von Ausnahmen ab, bei denen diese Methode auch versagen kann. Aber leider können gefriergetrocknete Objekte nicht einer durchlichtmikroskopischen Untersuchung zugeführt werden, da das Objekt vollkommen starr und unveränderlich ist und kein Wasser mehr aufnehmen kann. Es ist verständlich, daß sich solche Objekte auch nicht zu Schnitten eignen. Daher bleibt dem Präparator nichts anderes übrig, als sowohl Gefriertrocknung als auch Alkoholkonservierung durchzuführen – Verfahren, die die doppelte Zahl von Objekten erfordern. Selbstverständlich eignen sich auch sehr fettgewebereiche Objekte oder verölte Insekten kaum zur Gefriertrocknung.

8. Fixierungsmethoden

Dabei wird einerseits die Körperform erhalten, andererseits werden die Gewebe „gehärtet" und ihnen das Wasser entzogen. Dies wird mit sogenannten Fixierungsgemischen erzielt. Es gibt eine beträchtliche Menge von solchen Rezepten, die alle gute Resultate erzielen. Der Nachteil der Fixierungen liegt im Verlust der Farbe. Alle Fixierungsflüssigkeiten sind mehr oder minder giftig; beim Hantieren sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten.

8.1. Objekte

Alle Insektenobjekte, die noch die weichen, inneren Gewebe enthalten, können fixiert werden. Die kleinen Raupen von Blattminierern können zu fast allen späteren Untersuchungen so behandelt werden. Vor der Fixierung sollen die Larven im aufkochenden Wasser gestreckt werden. Ganz hervorragend lassen sich Parasitierungen durch Fixierung konservieren: Parasitierte Entwicklungsstadien (Ei, Raupe, Puppe), Endoparasiten in allen Stadien usw.- Die Fixierung von Insekteneiern, von denen sich der Inhalt des geschnittenen Eies leicht von der Hülle trennt, ist schwierig und wird hier nicht behandelt.

Auch für die Darstellung und Dokumentation von allem Minenmaterial – also Pflanzen – kann die Fixierung gute Dienste leisten. Minen in Stengelteilen werden für den folgenden Mikrotomschnitt fixiert.

In der Präparation der weiblichen Genitalien werden gute Resultate bei kleinsten, wenig sklerotisierten Insektenorganen, besonders schwer zu präparierenden „Blasen", „Bulben", „Bursen" u.a. erzielt; diese Organe kollabieren bei Überführung von einem Medium ins andere und verlieren dabei ihre Form und können oft nur schwer oder gar nicht wieder in eine annähernd natürliche Lage und Form zurückgeführt werden. Gerade bei solchen Organen scheitern die meisten Präparatoren. Um in solchen Fällen überhaupt ein Resultat zu erzielen, empfiehlt es sich, gleich nach der Mazeration auszuwaschen und in das Fixierungsgemisch überzuführen und das Objekt einige Tage darin zu belassen. Dann wieder auswaschen, das Objekt säubern und in hochprozentiges Aethanol überführen und recht gut färben (Chlorazol und allenfalls Mercurochrom).

8.2. Fixierungsgemische

Fast alle Fixierungsflüssigkeiten sind einfach und enthalten ungefähr die gleichen Chemikalien: Formaldehyd-, Sublimat-, Chrom- und Essigsäuregemische kann man selbst herstellen. Der

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Autor findet bei den meisten Objekten mit dem altbewährten Fixierungsgemisch nach Bouin das Auslangen: 15 ml gesättigte, wäßrige Pikrinsäurelösung, 5 ml Formol und 1 ml Eisessig. Nach der Fixierung von einigen Tagen wäscht man mehrmals in 70%igem Alkohol längere Zeit aus und kann auch in diesem Alkohol aufbewahren. Auf Expeditionen fixierte Objekte können während der ganzen Reisedauer im Fixierungsgemisch bleiben und erst im Labor in den Alkohol übergeführt werden.

Die einfachste Fixierung ist in Formol (40%ige Lösung von Formaldehyd in Wasser), das man noch einmal 1:4 mit Wasser verdünnt. Die Objekte bleiben einige Tage in der Lösung. Auswaschen in 50%igem Alkohol und Überführung in 70%igen, in dem sie aufbewahrt werden können. Allerdings kann die Fixierung mit Zusatz von Formaldehyd die Objekte etwas brüchig machen.

Ein gutes und einfaches Fixierungsgemisch ist Carnoy: 60 Teile absoluter Alkohol, 30 Teile Chloroform und 10 Teile Eisessig. Dieses Gemisch fixiert Insektenpräparate gut und schnell. Nach der Fixierung überführt man mit einer Alkoholreihe (unbedingt erforderlich) in 70%igen Alkohol. Die Objekte werden weniger brüchig und gut transparent.

8.3. Alkoholkonzentration

Die Alkoholkonzentration kann leicht mit einem Alkoholometer bestimmt werden. Ist ein solches nicht vorhanden, so kann man Verdünnungstabellen verwenden. Da diese aber sehr kompliziert sein können, wird eher davon abgeraten. Zur Verdünnung von Alkohol auf eine beliebige Konzentration nimmt man stets so viele Kubikzentimeter Alkohol der Ausgangskonzentration, wie die Prozentzahl des gewünschten Alkohols angibt, und setzt diesem so viele Kubikzentimeter Wasser zu, wie der Differenz der Konzentration des Ausgangsalkohols und der Verdünnung entsprechen. Die Menge der Kubikzentimeter des erhaltenen Gemisches ist gleich der Prozentzahl des zu verdünnenden Ausgangsalkoholes. Um z. B. aus 96%igem Alkohol 70%igen herzustellen, nimmt man 70 Kubikzentimeter 96%igen Alkohol, fügt 26 Kubikzentimeter Wasser hinzu (96-70=26) und erhält 96 Kubikzentimeter 70%igen Alkohol.- Oder es soll aus 70%igem Alkohol 50%iger hergestellt werden. Man nimmt 50 Kubikzentimeter 70%igen Alkohol, fügt 20 Kubikzentimeter Wasser hinzu (70-50=20) und erhält 70 Kubikzentimeter 50%igen Alkohol (PAWLOWSKI 1960).

Brennspiritus soll man nach Möglichkeit durch ein anders denaturiertes Aethanol ersetzen. Brennspiritus wird mit Holzgeist denaturiert. Ein langes Arbeiten mit diesem Alkohol kann die Gesundheit beeinträchtigen – und vor allem stinkt dieser Brennspiritus penetrant. Der Verfasser verwendet zu verschiedenen Zwecken, also auch für mikroskopische Präparationen, 97,5% Aethanol, das mit 2% Benzin denaturiert wurde.

8.4. Hinweise zur Fixierung

Für die Fixierung von Spermien zur Untersuchung des Nucleus (Chromosomen-untersuchungen) sind alle diese Gemische nicht geeignet.

Pikrinsäure ist giftig und explosiv und wird in Deutschland und Österreich nur gegen eine Erwerbsberechtigung (Gifterwerbsschein) verkauft. Als gesättigte wäßrige Lösung kann Pikrinsäure ohne weiteres hantiert und versendet werden.

Sehr gut bewähren sich fixierte Objekte für alle lichtmikroskopischen Untersuchungen und für Schnitte. Für die SEM-Vorbereitung muß nach der Fixierung in Wasser ausgewaschen und dann exsikkiert werden, wobei diese Objekte gut ihre Form behalten.

Ein kleiner Trick hilft bei den folgenden Objekten: Einige Schmetterlingsgattungen besitzen schwach sklerotisierte, stark asymmetrische Genitalien, in denen ein Teil blasig aufgetrieben ist (meist die Valven). Auch im weiblichen Geschlecht finden sich einige innere Organe mit nur schwacher oder überhaupt fehlender Sklerotisierung (Bursa copulatrix, Bursa seminalis). Sol-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

che Organe kollabieren im Zuge der Genitalpräparation, werden faltig und verlieren ihre natürliche Form (bei Änderungen des Turgors durch die oft heftigen Turbulenzen der sehr verschiedenen Chemikalien oder auch nur durch die mechanische Überbeanspruchung dieser empfindlichen „Bulben" durch die Präparationsnadeln des Präparators). Um dies zu verhindern, gibt es eine Hilfe, die allerdings auch kein Alheilmittel ist. Man bringt das mazerierte Objekt in die endgültige Lage, die es im Einschlußpräparat einnehmen soll und fixiere zunächst in hochprozentigem Alkohol. Gleich darauf führe man in ein oben angeführtes Fixierungsgemisch über und belasse das Objekt einige Stunden (oder beliebig länger) darin. Dann wird in hochprozentigem Alkohol ausgewaschen und mit einem Aufheller fortgesetzt. Solche Objekte besitzen nun recht gut fixierte Blasen oder andere, schwach oder nicht sklerotisierte Organe, haben aber zwei kleine Nachteile. Einerseits müssen nun (in Aufheller, am besten im Methylbenzoat) die Objekte gesäubert und wahrscheinlich das Abdomen von den proximalen Abdominalsegmenten getrennt werden, was etwas schwerer ist als bei nicht in einem Fixierungsgemisch (also nur im Alkohol) fixierten Organen, die weniger „spröde" sind. Andererseits ist es schon nicht leicht, die vor der Fixierung angestrebte Lage des Genitales zu erreichen, ohne daß die blasig aufgetriebenen Organe kollabieren. Für diese Präparation wird das Carnoy-Gemisch empfohlen.

Man verwechsle nicht das Fixierungsgemisch mit einem Fixativ (ein Mittel, das Blei-, Graphit- und Kohlezeichnungen unverwischbar macht), einem Wort, das einen völlig anderen Begriff definiert.

9. Aufweichmethoden

Auf Reisen und Expeditionen und bei einem Anfall von sehr vielen Tieren ist es manchmal unerläßlich, die Motten nur zu breiten („Vorpräparation" nach AMSEL (1935)) und erst später zu spannen. Auch andere als Mikrolepidopterologen ziehen diese Methode vor. Das gebreitete Material kann sehr eng in flachen Schachteln mit weicher Steckunterlage ohne Kaschierung untergebracht werden (sicher enger als in der Abbildung bei AMSEL 1935). Solche Behälter müssen unbedingt mit einem Dämmstoff (ev. Watte, Noppenhüllen) umhüllt und in einem größeren Behälter mit einem stoßdämmenden Material untergebracht werden. Unbedingt erforderlich sind ein Stückchen eines Mottenpapieres auf der Steckunterlage und bei hoher Luftfeuchte ein Schimmelschutz. Vor dem Entnehmen des getrockneten Materiales bringe man die ganze Schachtel in eine feuchte Atmosphäre, um die Motten ein wenig aufzuweichen und verwende entsprechende Steckpinzetten oder Steckzangen, keineswegs die Finger, zum Herausnehmen. Dann werden die Motten in das Aufweichgefäß gesteckt.

Zum Aufweichen braucht man ein entsprechend großes, dichtes Gefäß, das nur wenig Raum über den Nadelenden der genadelten Objekte aufweist, eine saugfähige Füllsubstanz und eine entsprechend große Steckunterlage. Als Füllsubstanz eignen sich entweder Ziegelstückchen geringer Größe, das Pflanzensubstrat „Seramis" oder einige Arten Katzensand, die nicht vom Aufweichmittel aufgeweicht werden können. Aufweichmittel: Leitungswasser, einige Tropfen Isopropanol und eine winzige Menge eines Schimmelmittels (kein Karbol, Paradichlorbenzol, Naphthalin); am besten hat sich 4-Chloro-3-Methylphenol bewährt. Der Autor verwendet es nur in einer schwachen Lösung in Isopropanol, wobei dieser Alkohol gleichzeitig als Netzmittel wirkt. Die Füllsubstanz soll nur so viel Flüssigkeit enthalten, wie sie aufsaugen kann. Es darf sich keine freie Flüssigkeit im Gefäß befinden. Beim Aufweichen sollen Temperaturschwankungen und Temperaturdifferenzen zwischen der Temperatur im Aufweichgefäß und der Atmosphäre außerhalb des Gefäßes vermieden werden, da sonst an der Innenwand des Aufweichgefäßes Wasser kondensiert. Sonnenbestrahlung muß vermieden werden.

Die Tiere werden auf die Steckunterlage gesteckt und verbleiben in der Weichdose so lange, bis sie ganz weich und somit spannfähig sind. Auf keinem Fall dürfen irgendwelche Körperteile der Schmetterlinge vom Kondenswasser benetzt und dadurch fleckig werden.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Die Insekten können bei sorgfältiger Beachtung aller Anweisungen und einiger Erfahrung des Präparators auch etwas längere Zeit in diesen Aufweichdosen, die man kühl lagert (etwa im Gemüsefach eines Kühlschrankes), weichgehalten werden.

Die Verwendung von Pflanzenmaterial anstelle einer feuchten Füllsubstanz ist keineswegs eine obsolete Methode. Dazu verwendet man zerschnittene Blätter von Schneerosen oder von hartlaubigen Bäumen oder Sträuchern (z.B. Kirschlorbeer), ein Fungizid und eine Steckunterlage für die Tiere. Die guten Resultate rechtfertigen diese uralte Methode.

10. Sicherheit beim Gebrauch von Insektennadeln

Der Umgang mit Insektennadeln aller Art erfordert besondere Vorsichtsmaßnahmen, die in keiner einschlägigen Literatur erwähnt werden. Der Verlust dieser Nadeln, besonders der kleinsten, kann sowohl im Freien (Verletzung von Wild- und Haustieren auf der Haut, im Darm und an den Luftwegen) als auch in Gebäuden und Fahrzeugen eine erhebliche Gefahr für Mensch und Tier bedeuten. Daher verwahre man Nadeln immer in dichten Kunststoff- oder Metallbehältern, die dann wieder in einem Behälter für die Präparationsutensilien untergebracht werden. Die Briefchen, in denen die Nadeln üblicherweise von den Erzeugern oder Händlern versendet werden, sind nicht für die Arbeit auf Reisen oder im Freien geeignet. In britischen Geschäften erhält man alle Minutien in Kunststoffröhrchen.

11. Insektenpräparate für lichtmikroskopische Untersuchungen

Die Herstellung von mikroskopischen Insektenpräparaten ist vielen Sammlern und sogar manchen Institutsentomologen verdächtig, und sie betrachten die Präparate lediglich als Determinationshilfe und die Entnahme als Verstümmelung der Sammlungsobjekte. Sie können noch immer nicht begreifen, daß saubere Präparate die Sammlung bereichern und ihren Wert beträchtlich heben. So kommentierte eine europaweit bekannte Kapazität die Anfertigung eines Genitalpräparates für eines seiner Sammlungsobjekte mit den folgenden Worten: „Schweren Herzens opferte ich ein Tier zur Anfertigung eines Genitalpräparates". Diese Worte stehen für sich und sagen alles. Ein anderer recht bekannter Spezialist spülte die untersuchten Genitalien in den Abfluß, da ja das Tier ohnehin schon „ausreichend determiniert ist" und das Genitale aus diesem Grunde nicht mehr gebraucht wird.

Es sei an dieser Stelle aber auch betont, daß eben nur – und ausnahmslos – saubere, in einem wasserfreien Einbettungsmittel eingebettete oder in einer konservierenden Flüssigkeit gelagerte Präparate Wert haben, und alles andere Material wirklich die Sammlungsobjekte für immer ruiniert. Schnelle Totalfärbungen, überfärbte Objekte, in Schuppen und Schmutz schwimmende Genitalien, trübe Präparate, Luft- und Wassereinschlüsse, wasserlösliche Einbettungsmittel undsofort sind tatsächlich geeignet, den Ruf mikroskopischer Methoden in der Entomologie zu zerstören. Und ein Blick auf einige Genitalpräparate aus den Schränken der großen Museen ist für einen gewissenhaft arbeitenden Entomologen niederschmetternd und enttäuschend.

Ein nicht zu entschuldigendes Manko der modernen Entomologie ist eine auf diesem Gebiet perfekte Ignoranz der Schulung der Mitarbeiter und der wissenschaftlich arbeitenden Entomologen. Es fehlt auf diesem Gebiet an allem: Der universitären Ausbildung mangelt es weitgehend an einer gründlichen Schulung in allen lichtmikroskopischen Methoden, besonders die Vermittlung eines Basiswissens und -könnens. Die Lehrenden sollen sich nicht scheuen, auch die Grundbegriffe zu lehren und die Übung nicht zu vernachlässigen. Schließlich bedenke man, daß viele später in ihren Instituten erhebliche Schwierigkeiten an der fundamentalen biologischen Methodik aufweisen und sich dann im Beruf Schwierigkeiten ergeben, die entweder ignoriert oder durch Pfusch ersetzt werden. Aber auch die entomologischen Vereine, Arbeitsgemeinschaften und Gesellschaften denken nicht daran, Vorträge und Kurse zum Erlernen entomologischer Techniken zu veranstalten. Auch ergibt sich das Problem, geeignete Vortra-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

gende zu finden. Und wenn einer sie hält, erhebt sich die Frage, ob die Leute, die sie brauchen, vielleicht gar nicht teilnehmen. Ganz fehlt es an leichtverständlicher Literatur, besonders solcher für den Anfänger.

Für die Kustoden größerer Insektensammlungen wird es in Zukunft unerläßlich sein, auf Fortbildungsveranstaltungen solches Wissen zu erwerben oder zu vermitteln, einerseits, weil die universitäre Bildung solche Techniken nicht lehrt, andererseits weil es für diesen Beruf eine Voraussetzung sein muß, alle auf diesem Gebiet notwendigen Techniken zu beherrschen und zwischen gediegener Arbeit und Pfusch zu unterscheiden.

Zur Untersuchung der blattminierenden Schmetterlinge werden vor allem folgende Präparate benötigt: Raupenpräparate, Exuvien, Teile der Imagines und besonders Teile des Integumentes wie Flügel, Kopf, Beine, Genitalien, Flügelschuppen. Die (mikroskopisch) sehr groben Objekte bestehen aus dicken Sklerotinschollen mit sehr geringem Kontrast aber besonderer Strukturvielfalt. Die Präparation solcher Objekte (Totalpräparate ganzer Organe) wird oft gar nicht als mikroskopische Technik gewertet und erfordert daher kaum mikroskopische Geräte und Methoden; trotzdem soll der Bearbeiter eine solide mikroskopische Praxis erwerben, denn sowohl die Methoden als auch die Geräte sind von jenen der klassischen Mikroskopie nur wenig verschieden.

11.1. Geräte

Für die Präparation von Insektenorganen zur Betrachtung im Lichtmikroskop sind folgende Geräte notwendig:

Stereolupe mit einer der Größe der Organe entsprechenden Vergrößerung und einer Durchlichtausrüstung, verschieden starke Nadeln und Minutienstifte (diese können durch geeignete Kakteenstacheln ersetzt werden) in Nadelhaltern oder auf einen Stiel oder ein Heft aufgeleimt, Objektträger mit verschieden großen Vertiefungen, verschieden große, quadratische Deckgläschen (von 10x10 bis 20x20) genormter Stärke, kleine Blockschälchen mit kleinen Vertiefungen und Deckgläsern, verschieden große Uhrgläschen in entsprechender Anzahl, verschiedene kleine Glasstäbchen, einige Tropfpipetten, kleine Tropffläschchen aus Plastik, kleine, kurze, verschließbare Eprouvetten, Kocher, eine feine Mikropinzette, kleines Skalpell, Mikroschere, Wasserflasche (Spritzflasche), Zellstoff, Behälter für Flüssigkeitsreste, Unterlage aus weißem Papier, kleine Trichter, ev. Alkohol für den Brenner, ev. Gaskartuschen, Steckunterlagen und Marderhaarpinsel Nr. 2.

Oft hat man bei der Bearbeitung kleinster Objekte in einem einzigen Wassertropfen beträchtliche Schwierigkeiten mit der Oberflächenspannung schon beim Eintauchen der Präparationsnadel. Daher ist es angebracht, feinste Minutienstifte noch feiner zu schleifen. Dies ist mit zwei Methoden zu bewältigen: Elektrolytisch, ein Verfahren, das man im Normalfall nicht im Labor bewältigen kann und einer Firma überlassen muß oder durch Abschleifen mit Korund- (=Schmirgel-) Papier. Man verwende dazu feinstes Papier (Polierpapier) und schleife die Nadel, die auf einem Halter befestigt sein muß, zwischen zwei Papieren. Man erhält zumindest bei einiger Übung noch feinere Nadelschäfte, die durch die geringere Oberfläche eine geringere Adhäsionswirkung bewirken und die Wasseroberfläche (die Oberflächenspannung) weniger stören als die relativ groben Nadeln, die die Industrie herstellt. Angeblich soll es auch Glasfasern (u.a. in der Gentechnik verwendete) im Handel geben, die den hohen Ansprüchen der Präparation kleinster Genitalien und anderer Objekte gerecht werden.

Runde Deckgläschen sind entbehrlich. Sie sind sehr teuer, leichter zerbrechlich als quadratische und durch die Zerbrechlichkeit sehr schwer zu reinigen. Im allgemeinen findet man mit Deckgläschen 12x12 bis 20x20 (das sind die überall lagernden Standardgrößen) das Auslangen.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

11.2. Chemikalien etc.

Entmineralisiertes oder destilliertes Wasser, Aethanol hochprozentig und in entsprechenden Verdünnungen, Isopropanol, Genitase (hochwirksame proteolytische Enzyme zur Kaltmazeration), Kalilauge in hochprozentiger Lösung und in Substanz, konzentrierte Essigsäure (=Eisessig), Glyzerin, Methylbenzoat, evtl. Nelkenöl, evtl. Lavendelöl, Xylol, Lösungsmittel für das Einschlußmittel, Einschlußmittel, Wundbenzin, Farbstofflösungen und Zubereitungen. Fixierungsgemisch oder die Substanzen des Gemisches. Tensid. Evtl. Karbol, Chlorlauge (Natrium-Hypochlorit-Lauge).

Man beachte bei der Etikettierung der Fläschchen und Gefäße und auch sonst, daß lasergedruckte Etiketten von einigen stärkeren Lösungsmitteln (Xylol, Essigäther = Äthylacetat, Schwefeläther etc.) angegriffen und gelöst werden. Eine haltbare Beschriftung fördert nicht nur das Erkennen des Inhaltes, sondern auch die Sicherheit. Selbstverständlich sind auch die lasergedruckten Sammlungsetiketten vor den genannten Lösungsmitteln zu schützen.

Xylol, Perchloräthylen und die Pikrinsäure (die letztgenannten sind für unsere Arbeiten entbehrlich) sind erwerbsscheinpflichtig („Giftschein").

11.3. Mazeration

Unter Mazeration versteht man die Auflösung weicher tierischer Gewebe unter Einwirkung von Chemikalien. Die hyalinen und sklerotisierten Gewebe werden bei der Insektenmazeration möglichst erhalten und sollen auch sichtbar sein.

Abtrennen des Hinterleibs: Zur Präparation der äußeren Genitalien müssen diese vom übrigen Körper getrennt werden. Dies kann bei größeren Schmetterlingen durch Abtrennen der Hinterleibsspitze mit den letzten Segmenten mit einer kleinen, spitzen Spezialschere („Mikroschere") gemacht werden, aber bei den kleinsten Lepidopteren ist dies zu schwierig, und es ist mit den derzeit üblichen Mitteln leider nichts anderes möglich, als das ganze Abdomen vom Thorax abzutrennen. Zum Ablösen des Hinterleibs sind die auf einem Heft oder einem Zahnstocher aufgeleimten Minutienstifte nicht geeignet, da durch den federnden Metallschaft das abgelöste Abdomen weggeschleudert wird. Als Werkzeug eignet sich eine stärkere Insektennadel (ab etwa Größe 0) oder ein größerer Kakteenstachel. Um das abgebrochene Abdomen nicht zu verlieren, arbeitet man auf einer größeren weißen Unterlage. Der genadelte Schmetterling wird auf eine weiße Steckplatte gesteckt und das Abdomen vorsichtig von der Bauchseite her nach oben bewegt. Man vermeide ein Berühren der Abdomenspitze, um die Strukturen nicht zu beschädigen. Wenn sich der Hinterleib vom Thorax ein wenig gelöst hat, kann man auch mit der Nadel etwas nachhelfen und von oben drücken, um ihn ganz abzutrennen. Diese Methode versagt manchmal. Es kann vorkommen, daß sich auch der Metathorax mit den Hinterflügeln zusammen mit dem Abdomen ablöst. Dann muß man diese beiden trennen. Das kann auf einer harten Unterlage geschehen. Man legt den abgetrennten Teil auf den Rücken und präpariert nun von der Bauchseite her. Man versucht, die Verbindung zwischen dem Metathorax und dem Abdomen mit der horizontal geführten Nadel zu lösen. Den Metathorax und die mit ihm verbundenen Hinterflügel gibt man in eine Gelatinekapsel und befestigt diese an der Trägernadel. Wer sehr geschickt ist, kann den Metathorax mit Insektenkleber wieder ankleben, eine recht schwierige Prozedur. Besondere Vorsicht erfordert das Abtrennen des Abdomens, wenn die Hinterbeine sehr lang sind und neben dem Hinterleib liegen, was bei Minierern häufig der Fall ist. Sollten Hinterbeine abgebrochen sein, so sind auch diese immer mit den anderen Resten in einer Gelatinekapsel zusammen mit dem Schmetterling aufzubewahren, damit sie für spätere Untersuchungen verfügbar sind.

Wenn das ganze Abdomen abgetrennt wird und später bei der üblichen Präparation vom Genitale getrennt wird, sollen auch die ersten Abdominalsegmente daneben eingebettet werden bzw.im Flüssigpräparat zusammen mit diesem aufbewahrt werden. Diese Reste dürfen nicht

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

weggeworfen werden, weil sich darauf z.B. bei den Leucopteridae, Coleophoridae und Nepticulidae taxonomisch wichtige Strukturen befinden.

Zur Mazeration werden zwei verschiedene Methoden praktiziert: Die Genitasemethode und die Laugenmethode. Beide resultieren etwa gleichwertige Ergebnisse.

11.3.1. Genitase

Es handelt sich um ein hochkonzentriertes proteolytisches, aus Bakterien isoliertes Enzym mit der optimalen Aktivität bei 60°C und einem pH-Wert der Lösung zwischen 7 und 11. Das Enzym wird in einem Granulat aus verschieden großen Kügelchen in den Handel gebracht. Die Kügelchen werden in einer dem angegebenen pH-Wert entsprechenden Lösung von Kalilauge in Wasser aufgelöst (Trübung) und sind gebrauchsfertig. Zur schnelleren Reaktion wir eine erhöhte Temperatur in einem Wärmeschrank oder einer gleichwertigen Anlage empfohlen. Bei höherer Temperatur ist der Wasserverlust durch Verdunstung zu beachten oder auszuschalten. Die Reaktionszeit liegt zwischen einem halben und mehreren Tagen und kann angeblich ohne Schaden am Objekt noch länger ausgedehnt werden. Die Reaktionszeit ist abhängig von der Größe und Permeabilität des Objektes, der Abweichung von der optimalen Temperatur und dem optimalen pH-Wert von 9,5-10. Die Permeabilität kann durch Einlegen des Objektes in eine Tensidlösung vor der Mazeration erhöht werden, aber auch eine geringe Menge von Detergenzien in der Enzymlösung erbringt die gleiche Wirkung.

Die sehr langsame Reaktion der objektschonenden Methode hat den Vorteil, daß Objekte tagelang in der Enzymlösung verbleiben können, ohne Schaden zu erleiden.

Die Arbeit mit hochwirksamen proteolytischen Enzymen verlangt entsprechende Vorsichtsmaßnahmen, die im Beiblatt zur Enzymlieferung mitgeteilt werden.

11.3.2. Laugenmethoden

Einige Laugen können eine Mazeration bewirken. Es bieten sich zwei gleichwertige, nur in ihrer Reaktionszeit verschiedene Methoden an. Bei beiden Methoden sollen geringe Mengen von Tensiden in der Laugenlösung enthalten sein, um die Durchdringung der sehr leichten und oft von Luftkammern durchsetzten Objekte zu ermöglichen. Oder: Vor der Laugenbehandlung kann man das Objekt kurz in Alkohol tauchen und erzielt den gleichen Effekt. Folgende zwei Laugen werden verwendet: Kalilauge und Natronlauge. Die Mazeration in der billigen Kalilauge wird vorwiegend praktiziert, und wir haben auch entsprechende Erfahrung. Die Lauge kommt in Substanz als etwa linsengroße Perlen in den Handel. Die Reinheit der Laugensubstanz ist für den Preis wesentlich; für die groben entomologischen Arbeiten spielt sie aber wenig Rolle.

11.3.3. Kaltlaugenmethode

Wegen der niedrigen Temperatur lange Reaktionszeit. Das Objekt wird in eine mindestens 40%ige Lauge eingelegt und darin etwa 12 Stunden belassen und dann auf die Mazeration überprüft. Die Exposition ist weitgehend von Erfahrungswerten abhängig, und es kann in dieser Hinsicht kaum ein Hinweis gegeben werden. Material von frischen Tieren ist mit dieser Methode nur schwer zu mazerieren, da die Lauge die gequollenen Eiweißklumpen nur schwer durchdringt. Altes Material aus Beständen, die Tabakrauch, Chemikalien (besonders Paradichlorbenzol und Naphthalin und unreinem Mirbanöl), Öldämpfen, Abgasen usw. ausgesetzt waren, sind nur sehr schwer mit kalter Lauge mazerierbar. Angeblich spielt auch das Tötungsmittel eine Rolle. Trockene Objekte sind mit Luftkavernen durchsetzt, daher empfiehlt sich die Beigabe von Tensid und die Anwendung von deckender Glaswolle. Verschimmelte Insekten können nur sehr vorsichtig behandelt werden, daher nur eine schwache Lauge versu-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

chen; die häutigen Teile werden vom Pilz teilweise oder ganz paralysiert, zumindest von den Hyphen durchdrungen, während die Sklerotinstrukturen unbeschädigt sind. Solche Objekte sind nur bedingt brauchbar.

Die oft notwendige Sklerotinreduktion bei störend dicken, wenig transparenten Schollen kann u.a. auch durch längere Anwendung von Lauge sowohl von kalter Lauge als auch nach dem Kochen mit der ausgekühlten Lauge vorgenommen werden. Zuerst versuche man eine Exposition von 6-8 Stunden, wenn dies zu wenig ist, länger. Die Sklerotinreduktion ist bei Genitalien blattminierender Schmetterlinge wegen der meist dünnen Kutikula weniger aktuell, zur Untersuchung von Puppen aber schon oft angeraten. Bei der mikroskopischen Untersuchung anderer Insekten ist die Reduktion des Sklerotins eine unentbehrliche Technik.

11.3.4. Heiße Lauge

Die Lauge mit einem Tensidzusatz wird in einem Reagenzglas mit dem Objekt langsam unter Schütteln (Vermeidung des Explodierens als Folge der Siedeverzögerung) erhitzt. Die Mündung des Behälters darf nicht zum Körper des Präparators gerichtet sein. Es sei bemerkt, daß Tensidzusätze den Siedepunkt bzw. die Siedeverzögerung der Lauge erheblich verändern (siehe unten). Zum langsamen Erhitzen eignet sich eine Alkohol-, zum schnellen eine Butan- oder Propanflamme. Nur als Notlösung kommen andere Flammen oder eine Heizspirale in Frage. Die Erhitzung in einem Flüssigkeitsbad ist zeitraubend und muß auch immer wieder überwacht werden, um einen Flüssigkeitsverlust zu ersetzen. Der Vorteil des Flüssigkeitsbades liegt in der niedrigeren Temperatur (unter 100°) und daher in der Vermeidung der Siedeverzögerung. Die Exposition in heißer Lauge ist kurz und daher sehr ökonomisch. Vor einer Unterbrechung des Schüttelns des Reagenzglases über der Flamme wird wegen der Siedeverzögerung bei Laugenerhitzung gewarnt. Der Beginn des Kochens kann nicht abgeschätzt werden, und zu diesem Zeitpunkt ist das Schütteln des Reagenzglases unbedingt notwendig. Die Verwendung der sehr heißen Gasflamme wird nur erfahrenen Praktikern empfohlen. Gegner dieses Verfahrens mit heißer Lauge führen immer wieder eine radikale Mazeration ins Treffen, ein keineswegs zutreffendes Argument. Alle, auch die zartesten Strukturen, werden erhalten und können untersucht werden.

Diese Methode mit siedender Lauge entfernt die meisten Schuppen und erleichtert so die Arbeit wesentlich. Dies ist ein unverzichtbarer Vorteil bei der Mazeration von Schmetterlingen, der bei der Bearbeitung anderer Insekten unwesentlich ist.

Es sind alle Vorsichtsmaßnahmen bei der Arbeit mit heißen und der Siedeverzögerung unterliegenden Laugen zu beachten. Viele Praktiker stecken einen Wattebausch in das Ende des Reagenzglases, um ein Auswerfen der explodierenden Lauge zu vermeiden. Selbstverständlich eignen sich nur Gläser aus hitzebeständigem Glas. Eine Beigabe von kleinen Glaskugeln zum Vermeiden der Siedeverzögerung ist wohl nur bei sehr großen Objekten zu empfehlen.

Das Sieden mit heißer Lauge wird von manchen erfahrenen Praktikern als gefährlich bezeichnet und wird von ihnen abgelehnt. Der Autor hat bisher keine schlechten Erfahrungen gemacht, was auch ein Argument ist. Zwischen den beiden diskutierten Methoden gibt es natürlich alle Möglichkeiten der Temperatursteuerung, von der Anwendung eines Thermostaten bis zur Erwärmung über verschiedenen Wärmequellen. Die Regel, daß die Mazerationsdauer mit steigender Temperatur der Lauge sinkt, ist natürlich zu beachten.

Erfahrene Praktiker kontrollieren mit einer schwachen Lupe den Grad der fortschreitenden Mazeration schon im Reagenzglas und können sehr gut ein perfekt mazeriertes Objekt erkennen. Aber keine Sorge, ein Insektenorgan wird nicht gleich „zerkocht".

Die Beigabe einer winzigen Menge eines Tensides mildert die Wirkung der Siedeverzögerung und ist auch sonst ein ausgezeichneter Trick zur Erleichterung der Arbeit. Das Abdomen wird damit viel schneller von der Flüssigkeit durchdrungen, und das Objekt sinkt ab und verbleibt nicht an der Flüssigkeitsoberfläche (Vermeidung der Wirkung der Oberflächenspannung). Lei-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

der wird auch diese Methode nirgends in Arbeitsanleitungen mikroskopischer Techniken für Insekten erwähnt.

11.4. Präparation bis zur Einbettung

11.4.1. Wässern

Nach der Mazeration wird jedes Objekt gewässert, und zwar gründlich und lange. Dabei kann auch in entmineralisiertem Wasser gekocht werden, ohne daß das Objekt Schaden erleidet. Die Wässerung hat auch den Vorteil, daß das Objekt in ein neutrales Medium übergeführt wird.

11.4.2. Säurebehandlung

Nur sehr große Objekte, größere Sklerotinschollen, grobe und übereinandergelagerte Strukturen (die meisten großen Genitalien) sollen nun in konzentrierte Essigsäure eingelegt werden. Für kaum oder nicht transparente Sklerotinteile kann auch in Chlordioxid-Essigsäure (Handelsname Diaphanol) übergeführt und darin kurz oder lange belassen werden, je nach gewünschtem Aufhellungsgrad. Dieses Mittel ist allerdings hochgiftig. Alle zarten Strukturen erfordern keine Säurebehandlung.

Wer Wert darauf legt, daß seine Präparate Jahrzehnte oder gar Jahrhunderte schadlos erhalten bleiben, wässert nach der Säure- bzw. Chlorbehandlung besonders gründlich, d. h. mehrmals, unter fließendem Wasser, allenfalls in Siebschälchen (Fairchild'sche Siebeimerchen). Große Organe müssen länger und gründlicher gewässert werden als kleine. Ein Säurerest paralysiert langfristig alle häutigen Gewebe, vielleicht auch gewisse Sklerotinsubstanzen. Die meisten Farben, besonders die acidophilen, werden von der Säure zerstört.

11.4.3. Entfernung von Fetteinschlüssen

Im Innern der Gewebe sind nun oft Fetttropfen, meist als große Kügelchen erkennbar. Sie müssen nicht unbedingt berücksichtigt werden, denn die folgende Präparation mit Lösungsmitteln entfernt das Fett ohnehin restlos.

Größere Fettkugeln (in Tineidenraupen und einigen anderen Objekten) können mit den üblichen Fettlösern (Chloroform, Schwefeläther u. a.) entfernt werden, aber nur nach dem Aufheller, falls in diesem Stadium wirklich noch Fett eingeschlossen sein sollte. Dann geht man vorsichtig wieder in den Aufheller zurück.

11.4.4. Präparationstechnik

Objektträger und Deckgläschen müssen immer sauber gereinigt werden. Jeder Praktiker hat seine eigene Methode. Einfach ist die Reinigung in der Geschirrspülmaschine mit einem Klarspüler. Viele verwenden eine Aethanollösung und fügen dieser etwas Zitronensäure und ein Tensid bei. Der Autor weicht die Werkzeuge in einer wässrigen Tensidlösung mit Zitronensäure ein, trocknet und führt in 40%iges Aethanol mit einer Beigabe von etwas Isopropanol über. Darin bleiben die Gläser und werden erst bei Bedarf herausgenommen und getrocknet. Manche putzen diese trockenen Gläser mit einem mit Xylol angefeuchteten Lappen, um die statische Aufladung zu vermeiden oder zu minimieren. Xylol soll auch die Aufladung der Spitzen der Präparationsnadeln vermindern.

In allerletzter Zeit wurden in Deutschland spezielle japanische Tüchlein, die Glas hervorragend reinigen, zum Putzen der Augengläser angeboten. Sie taugen auch für Objektträger und Deck-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

gläschen. Die in früheren Jahrzehnten oft arg verschmutzten Objektträger werden heute wohl kaum mehr im Handel zu finden sein. Solche müssen vorgereinigt werden.

Die meisten Praktiker behalten nun das Objekt im Wasser (mit Tensidzusatz), betten es auf einen Objektträger mit Hohlschliff und beginnen mit der Präparation, vor allem im Durchlicht und unter einer Stereolupe. Diese Manipulation wird erfolgreich mit feinen Nadeln bewältigt. Je nach Größe der Objekte können rostfreie Insektennadeln der Größe 000, alle rostfreien Minutienstifte und Kakteenstacheln verwendet werden. Die Minutienstifte werden am besten mit Sekundenkleber auf größeren Zahnstochern befestigt, Insektennadeln können auch in Nadelhalter geklemmt werden. Der Verfasser bevorzugt jedoch Zahnstocher und kurze Nadeln, um das Federn längerer Nadelschäfte nach Möglichkeit zu vermeiden. Selbstverständlich müssen alle solchen Werkzeuge kurz in die Hand genommen werden, das heißt, daß die Gerätespitzen nur wenig von den Fingerspitzen entfernt sind, um das bei vielen Leuten unvermeidbare Zittern zu minimieren.

Nun müssen unerwünschte Schuppen, Gewebereste, Gasblasen, vielleicht auch Fettreste entfernt werden und das Organ in die optimale Lage gebracht werden. Meist ist es nötig, das Wasser zu wechseln, um Schmutz und Schuppen immer wieder zu entfernen. Bei komplizierten und zusammengesetzten Organen und bei argen Überlagerungen müssen diese in eine gewisse Lage zueinander gebracht werden, um die Betrachtung bzw. die Determination zu erleichtern. Solche Organe werden gebreitet oder so gelagert, daß sie leicht erkennbar und zu dokumentieren sind. Eine gewisse Hilfe wird oft durch Absaugen des überschüssigen Wassers und damit durch die Erhöhung des Adhäsionsdruckes erreicht. Dann lassen sich die einzelnen Teile des Genitales leichter positionieren.

Es ist üblich, männliche Genitalien zu breiten, eine schwierige Technik, die nur von wenigen Entomologen wirklich beherrscht wird; leider ist bei dieser Methode viel Museumsmaterial verdorben worden. Das Genitale muß immer auf den Tegumenring (Tegumen, Saccus und Vinculum, 8. bzw. 9. Segm.) aufgesetzt werden und dann die ventralen, lateralen und dorsalen Teile nach allen Seiten geklappt werden. Der Aedagus soll auf die Dorsalseite zu liegen kommen, während die Penisbasis (Phallobasis) ventral zu liegen kommen soll. Die bei dieser Technik verwendete Flüssigkeitsmenge und Beschaffenheit (mit oder ohne Zitronensäure) spielt eine wesentliche Rolle für das Gelingen. Je kleiner die Objekte, desto größer die Schwierigkeiten, daher versuche man sich vorerst mit mittelgroßen oder großen Genitalien.

Manche Genitalien müssen in lateraler und ventrodorsaler Ansicht eingebettet werden. Besitzt man nur ein einziges Genital, dann kann man zuerst eine Positionierung in blasenfreiem Melthylbenzoat versuchen und so das Genitale dokumentieren (zeichnen, fotografieren) und dann in einer anderen Position einbetten.

Komplizierte Genitalien müssen zerlegt und die einzelnen Teile für sich eingebettet werden. Dadurch wird die natürliche Position der einzelnen Organe zueinander zerstört, und der Zusammenhang geht verloren. Eine Anwendung dieser Methode muß gut überlegt werden.

11.5. Geäderpräparate

Für Präparate des Flügelgeäders wird der immer von trockenen Schmetterlingen entnommene Flügel auf einen ebenen Objektträger gelegt und mit Chlorlauge (Natrium-Hypochlorit mit 16% aktivem Chlor, nichts anderes als das urgroßmütterliche Eau de Javelle zum Bleichen der Haare, das später durch Wasserstoffperoxyd ersetzt wurde oder das Swimming-Pool-Desinfektionsmittel der heutigen Generation) und dem feinsten Marderhaarpinsel (Nr. 1 oder 2) vorsichtig entschuppt. Zuerst versuche man größere Schmetterlingsflügel, später immer kleinere. Die Entschuppung führe man auf der Flügel-Oberseite und Unterseite zuerst in der Streichrichtung der Schuppen durch, also von der Flügelbasis zur Spitze. Die allerletzten Restschuppen entferne man durch Pinselstriche gegen den Schuppenstrich. Der wichtigste Vorgang ist das folgende Entwässern, um jede Chlorreaktion auszuschließen. Dann Alkohol, Einbettung. Das Entschuppen sehr kleiner Flügel (unter 5mm oder weit unter 5mm) gelingt bei wei-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

tem nicht immer, und es empfiehlt sich, diese Methode gut zu überdenken, um Schaden zu vermeiden. Sicher ist der Verschleiß der Marderhaarpinsel in der Chlorlauge enorm, auch wenn man sie sofort auswäscht (gesäuertes Wasser, Wasser). Diese sehr schwierige Methode ist die einzige, die Präparate zum Fotografieren liefert. Zur Entschuppung größerer Flügel kann auch anstelle des Pinsels das Schnepfenstiftl (erste, sehr kleine Flügelfeder der Schnepfe) verwendet werden.

Ähnlich verfahren BRADLEY, TREMEWAN & SMITH (1973), wenden aber nur eine sehr kurze Chlorbleiche an und führen anschließend in 80% Äthanol über, wo die restlichen Schuppen und Fransen entfernt werden. Der Alkohol kann verdunsten. Der trockene Flügel wird mit einem Deckglas bedeckt, das dann mit einer kleinen Menge Einschlußmittel an den Ecken fixiert wird (nicht wie bei den genannten Autoren mit Klebestreifen).

Ein besseres Verfahren liefert HERING (1941): Man fixiert das Objekt mit der Unterseite nach oben auf einer Steckunterlage und benetzt den Flügel mit Xylol, der mit einem feinen, spitzen Marderhaarpinsel übertragen wird. Große Falter werden in Xylol getränkt, damit der Flügel ganz durchsichtig wird; die Untersuchung muß dann allerdings im Durchlicht durchgeführt werden. Die kleinen Arten werden im auffallenden Licht von der Unterseite betrachtet. In einem bestimmten Stadium der fortschreitenden Verdunstung erscheinen die Adern plastisch und können auch mit dem vorher justierten Zeichenapparat schnell skizziert werden, da auch Xylol schnell verdunstet. Nach dem Austrocknen des Flügels kehren die Fransen wieder in ihre ursprüngliche Lage zurück. Dieses Verfahren schont die Objekte und vermeidet Beschädigungen und eignet sich auch für kleinste Motten.

BRADLEY, TREMEWAN & SMITH (1973) beschreiben auch hier ungefähr die letzterwähnte Methode Herings und verwenden als Aufheller Toluol oder Alkohol, der jedoch durch seine rasche Verdunstung weniger empfohlen werden kann.

Vor der Flügelpräparation kontrolliere man das Jugum bzw. das Frenulum und beachte die geschlechtsdimorphen Formen des Frenulums – auch eine Methode, die kaum in irgendeinem taxonomischen Werk erwähnt wird, obwohl Frenulumformen oft sehr charakteristisch für das Genus oder die Art sind.

11.6. Alkohol, Färbung, Aufheller

Die in der Mikroskopie praktizierten Alkoholreihen sind bei den groben makroskopischen Insektenpräparaten (ausgenommen Schnitte) nicht notwendig. Daher kann man vom Wasser fast ausnahmslos direkt in hochkonzentrierten Alkohol überführen. Das bedeutet, daß man eine bestimmte, durch die Präparation oft mühsam erreichte Position der Organe (besonders bei Genitalpräparaten) schnell mit hochkonzentriertem Alkohol fixieren kann. Auch in der weiteren Präparation kann diese Position bei Anwendung der hier angegebenen Methoden erhalten bleiben.

Der Alkohol reagiert auf zweifache Weise: Einerseits fixiert er das oft komplizierte Objekt und macht es hart, andrerseits entwässert er und erhöht die Transparenz.

Es wird verständlich, daß in Alkohol fixierte Objekte nicht mehr wesentlich verändert werden können, was bedeutet, daß in diesem Medium alle Präparationen vermieden werden müssen. Die Objekte dürfen bei der weiteren Präparation nicht mehr in ein wässriges Medium übergeführt werden, da die Organe sonst weich werden und sich die einmal fixierte Position wieder verändert.

Es werden folgende Alkohole empfohlen: Aethanol, vergällt, ab 94,5% und Isopropanol 100%. Reines (=unvergälltes) oder 100%iges Aethanol ist nicht notwendig. Der Alkohol kann mit einem Glasstäbchen oder einem Tropfer aufgetropft werden. Am besten eignen sich kleine (10-20 ml) Tropffläschchen aus Plastik, die durch die Möglichkeit des Auftropfens kleinster Mengen eine sehr sparsame Arbeitsweise ermöglichen. Ein Ausschütten des Inhaltes durch Umstoßen des Behälters wird mit solchen Fläschchen vermieden. Es gibt neuerdings auch billige

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Plastikfläschchen mit einer besonderen Tropfvorrichtung, die während des ganzen Präparationsvorganges offengehalten werden können, ohne daß sich der Inhalt verflüchtigt.

11.7. Farbstoffe

Für Totalpräparate sind nur wenige Farben notwendig. Sowohl häutige als auch sklerotisierte Elemente werden von den Totalfärbemitteln Mercurochrom und Pikrofuchsin gefärbt. Mercurochrom wird in Substanz und in 1 oder 2%iger Lösung verkauft, die dann stark verdünnt wird. Pikrofuchsin besteht aus Pikrinsäure (giftig und in Substanz hochexplosiv) und Fuchsin und kann mit wäßriger Pikrinsäure leicht selbst hergestellt werden. Chlorazol wird sehr stark verdünnt, und mit einem Bruchteil eines Grammes kommt man ein Leben lang aus. Mit Chlorazol resultiert man nicht gleich eine Totalfärbung, sondern vorerst nur eine Färbung des im mikroskopischen Bild schwer erkennbaren Bindegewebes. Die Färbung nur des Bindegewebes mit Chlorazol soll bei Insektenpräparaten nur kurz dauern (einzige Ausnahme bei Färbungen). Mit einer sehr schwachen Chlorazollösung (Färbung der Chlorazollösung mit freiem Auge kaum sichtbar) kann man sehr schön sehr zarte weibliche Genitalien färben, wenn man lange (tagelang) exponiert. Eosin ist sehr säure- und lichtempfindlich und wird aus diesen Gründen nicht zur Färbung von Dauerpräparaten empfohlen. Wer rote Farben aus optischen Gründen bei Verwendung panchromatischer Filme nicht verwenden will, kann mit Pikrin färben. Diese Farbe (1,2 g Pikrofuchsin auf 100 ml Wasser ergibt einen gesättigte Lösung) wird wie Mercurochrom verwendet. Es steht noch eine Menge anderer acidophiler Farben zur Verfügung, doch färben diese auch nicht besser als die erwähnten.

11.7.1. Farben in alkoholischen Lösungen

Der Verfasser empfiehlt nun eine neue Färbemethode, die seines Wissens nirgendwo praktiziert wird. Alle Färbungen, die nur bei sehr zarten Geweben und schwer sichtbaren Strukturen zu verantworten sind, werden in alkoholischen Lösungen angewendet, um die einmal erreichte Position der Organe zu erhalten. Alle in Totalpräparaten verwendeten Farben sind in hochprozentigem Aethanol löslich und können nun in kleine, verschließbare Behälter getropft werden. Die Objekte werden vorsichtig eingelegt und verbleiben bis zur optimalen Ausfärbung in der Farblösung. Das oft verwendete Chlorazol erfordert ausnahmsweise eine nur kurze Färbezeit, während das gut färbende Mercurochrom nur in einer sehr schwachen Lösung angewendet wird und daher eine extrem lange Exposition (einige Tage) benötigt. Es wird ausdrücklich vor einer Überfärbung oder Kurzfärbung (schmieriger Färbung) gewarnt. Auch hochprozentige Farblösungen werden immer wieder mit einer kurzen Exposition angewendet. Solche Objekte ergeben ein „schmieriges" visuelles Bild und sind für die fotografische Dokumentation ungeeignet.

Vor der weiteren Behandlung müssen die Objekte auf vollständige Ausfärbung aller Organe kontrolliert werden. Bei Chlorazolfärbung werden schnell alle häutigen (hyalinen) Gewebe gefärbt, es muß nur kontrolliert werden, ob auch alle Teile (Peripherie, Zentrum) des Objektes gleichmäßig die Farbe angenommen haben. Die Mercurochromfärbung, und mit ihr alle Farben, die auch Sklerotin färben, braucht eine lange Exposition, und es muß kontrolliert werden, ob der Farbstoff wirklich alle Organe (Kanäle, Bulben, enge Trakte und Spalten) erreicht hat.

Eine noch einfachere und anscheinend auch neue Methode kann die Arbeit wesentlich erleichtern. Gleich nach der Mazeration oder nach dem Essigsäurebad wird gründlich ausgewaschen und vorgereinigt und das Objekt auf dem Objektträger unter der Stereolupe in die gewünschte Position gebracht und diese mit hochprozentigem Aethanol oder 100%igem Isopropanol fixiert. Dann wird in die Farblösung übergeführt und gefärbt. Nach Abschluß des Färbevorganges wird über 100%iges Isopropanol bzw. hochprozentiges Äthanol in einen Aufheller – am besten in Methylbenzoat (Methylbenzoesäureester) – übergeführt und erst dann das Objekt endgültig gesäubert. Dies hat den Vorteil, daß nach der Färbung alle Organe deutlich sichtbar

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

sind und durch den Aufheller klar hervortreten, was die Präparation sehr erleichtert. Überdies ist eine vorsichtige Präparationstechnik in Methylbenzoat leichter zu bewältigen als in wäßrigen Lösungen.

11.8. Aufheller

Aufheller entziehen dem Objekt alles Wasser. Besonders Methylbenzoat und Nelkenöl können noch größere Mengen Restwasser aufnehmen und sind daher besonders zu empfehlen. Viele Aufheller sind nicht besonders flüchtig (Methylbenzoat, Nelkenöl, Lavendelöl), was die Arbeit mit ihnen wesentlich erleichtert. Als Aufheller kommen mehrere Substanzen in Frage, die sich alle hervorragend eignen. Wer sparsam arbeiten will, kommt mit dem Methylbenzoat ohneweiters aus. Dieses hat den Vorteil, daß die Objekte nicht sehr stark gehärtet werden, so daß gewisse Manipulationen (Reinigung, Trennung von Teilen) noch immer möglich sind. Methylbenzoat hellt besonders stark auf und wird bei sehr zarten, ungefärbten Strukturen besser nicht verwendet. Ein auch sehr starker Aufheller ist Nelkenöl, welches das Objekt stärker härtet als Methylbenzoat; daher sind weitere Manipulationen am Objekt in Nelkenöl nicht mehr zu empfehlen. Lavendelöl hellt nicht so stark auf, hat aber auch einen nicht so guten Brechungsindex. Daher bleiben sehr zarte Strukturen besser sichtbar. Alle Objekte müssen längere Zeit im Aufheller verbleiben, um eine gute Transparenz zu erreichen.

Es sei betont, daß das Aufhellen feinste Strukturen zum Verschwinden bringt. Daher wird es vorwiegend von schlampigen Präparatoren dazu verwendet, um unerwünschte Einschlüsse unsichtbar zu machen. Ein Hauptzweck des Aufhellens von Insektenpräparaten besteht aber darin, um übereinanderliegende Organe in geeigneter Schärfenebene deutlich sichtbar zu machen. Viele Zeichner verwenden Abbildungen eines Objektes in verschiedenen Schärfenebenen und bilden diese in getrennten Skizzen ab. Der Vorteil dieser Methode ist u.a. darin zu suchen, daß komplizierte, übereinanderliegende Organe nicht getrennt und zerschnitten werden müssen, sondern in einer halbwegs natürlichen Lage eingebettet oder sonstwie konserviert werden können. Die adäquate Blendeneinstellung und die entsprechende Fokussierung im Lichtmikroskop sind selbstverständliche Voraussetzungen für einen Erfolg.

11.9. Konservierung, Einbettung

Gewisse Objekte können, aber müssen nicht eingebettet werden. Dazu gehören die oft untersuchten äußeren Genitalien, die von den meisten Entomologen in verschiedenen Positionen betrachtet oder dargestellt werden. Eine Einbettung ist etwas Endgültiges, Unveränderliches und kann nachher nur mit großem Aufwand rückgängig gemacht werden. Daher empfiehlt der Verfasser eine Konservierung in einer nicht der Verdunstung unterliegenden Flüssigkeit in gut schließenden Glas- oder Plastikröhrchen, welche dann neben dem dazugehörigen Insekt oder in einem eigenen Behälter und entsprechend etikettiert, aufbewahrt werden. Als Medium eignet sich am besten Glyzerin, das aber sehr schlechte optische Eigenschaften (ungünstiger Brechungsindex) besitzt, und daher müssen so konservierte Präparate vor der Betrachtung in Wasser ausgewaschen und in hochkonzentrierten Alkohol und einen Aufheller übergeführt werden. Als Aufbewahrung für Glyzerinpräparate sind entsprechende Glasröhrchen („Glashülsen") mit einem vollkommen dichten Plastikverschluß (kein latexhältiges Material) geeignet. Solche, die auch für die Wirtschaft erzeugt werden, sind besonders billig. Man beachte, daß in den Behältern auch die Etiketten Platz finden müssen. Der Druck des Laserdruckers ist resistent gegen Glyzerin.

Empfehlenswert ist die Angabe des Einbettungsmediums in jedem Präparat, um einem späteren Bearbeiter einen Hinweis auf das Medium und vor allem auf das Lösungsmittel zu geben. Also: „Euparal-Präp. Nr. 061" oder nur „Euparal", „Glyzerin" etc.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Trockene und auf ein Aufklebeplättchen aufgeklebte Genitalien sind bei Schmetterlingen undiskutable Techniken, die in Instituten und für normal arbeitende Entomologen verboten sein sollen. Solche Methoden kommen einer Zerstörung des Sammlungsmateriales gleich.

Jede Einbettung in wasserlösliche Einschlußmittel (Glyceringelatine, Gelatinol, Fauresche Lösung, Polyvinyllaktophenol, Peldri II, Hydromatrix) kommt wegen des Wassergehaltes, der kurzen Haltbarkeit und der schlechten optischen Eigenschaften nicht in Frage; dazu sind die Objekte viel zu wertvoll. Jeder gewissenhaft arbeitende Entomolog hüte sich auch vor Präparaten, in denen das Deckgläschen mit Wachs-, Lack- oder Fettringen abgedichtet wurde und verbiete solche Präparationstechniken für Objekte aus seiner Sammlung. Außerdem gibt es kaum ein Institut, das solche provisorischen Einbettungen zuläßt. Es kommen daher nur natürliche oder synthetische Harze in Frage. Zu den wenigen Ausnahmen von dieser Regel gelten Trockenpräparate von schuppigen Flügeln oder ähnlichem, die wegen des optischen Kontrastes nicht in Flüssigkeiten oder Einbettungsharzen konserviert werden. Das klassische Einschlußmittel ist Kanadabalsam (echt) mit einem guten Brechungsindex, jedoch extrem langer Trockenzeit (Wochen) und einer gewissen Nachsäuerung; die Farben sind daher nicht haltbar, und gewisse Gewebe können nachteilig beeinflußt werden. Außerdem ist echter Kanadabalsam sehr teuer. Der künstliche Kanadabalsam ist immer neutral, enthält jedoch Xylol und ist daher gesundheitsschädlich. Sein Vorteil ist der gute Brechungsindex und seine Billigkeit. Heute stehen schon bessere Einschlußmittel zur Verfügung. Das Kunstharz Caedax besitzt gute optische Eigenschaften und ist haltbar, trocknet aber auch zu langsam. Als Lösungmittel kommen Xylol, Methylbenzoat und Terpineol in Frage, die beiden ersten können empfohlen werden, wenn man von der beträchtlichen Giftigkeit von Xylol absieht. Ein ideales und daher auch schneller trocknendes Einschlußmittel ist Euparal mit dem Lösungsmittel Euparalessenz. Leider beobachtet man bei Euparal eine beträchtliche Schrumpfung beim Aushärten. Ein anderes empfehlenswertes, schnell trocknendes Kunstharz ist Eukitt mit dem klassischen Lösungsmittel Xylol oder Benzol (giftig und kanzerogen). Außerdem schrumpft Eukitt beim Trocknen sehr stark, und dann muß zumindest bei dickeren Objekten immer wieder flüssiges Eukitt von der Seite unter das Deckglas gebracht werden.

11.9.1. Positionierung der Objekte

Manche Insektenpräparate müssen – im Gegensatz zu mikroskopischen Präparaten – eine gewisse Position der einzelnen Organe zueinander bzw. zur optischen Achse einnehmen, um eine optimale Betrachtung oder Dokumentation zu gewährleisten. Diese Position wird vor der Fixierung mit hochprozentigem Alkohol durch Präparation erreicht. Aber das genügt nicht. Auch das gesamte Präparat muß möglichst genau zur optischen Achse ausgerichtet werden, denn nicht jeder Präparator kann sich einen Drehtisch leisten. Oft sind symmetrische Organe genau übereinander oder symmetrisch zur Symmetrieebene des Insektenkörpers zu positionieren. All das gelingt mit einem einfachen Trick, der aber kaum bekannt ist. Man gibt einen dem Objekt entsprechenden, aber möglichst kleinen Tropfen Einbettungsmittel mit einem kleinen und dünnen Glasstäbchen auf die Mitte des Objektträgers und legt das Objekt in diesen Tropfen. Selbstverständlich müssen alle Teile des Präparates gut vom Einschlußmittel bedeckt sein. Dann bringt man das Objekt mit der feinsten Präparationsnadel in die gewünschte Position und bedeckt gleich mit einem kleinen, mit der konvexen Fläche nach oben gerichteten Uhrgläschen. Unter aufwendigen Spezialobjektiven können so eingebettete Objekte problemlos bei relativ schwacher Vergrößerung im Durchlichtmikroskop betrachtet werden. Nach der Trocknung fügt man die entsprechende Menge flüssiges Harz hinzu und bedeckt mit dem Deckgläschen. Das Objekt verbleibt in der richtigen Position. Anfangs erkennt man noch deutlich den im flüssigen Harz eingeschlossenen trockenen Tropfen, da flüssiges Einbettungsmittel einen anderen Brechungsindex hat als erhärtetes (Beispiel: Brechungsindex des flüssigen Euparals 1,483, des erhärteten 1,535). Dies gibt sich jedoch mit der Trocknung und resultiert in einem perfekt homogenen Medium.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

11.10. Ratschläge zur Anfertigung von mikroskopischen Insektenpräparaten

Man beachte bei der Herstellung von mikroskopischen Präparaten folgende, in der Praxis des Autors beobachtete Tatsache: Bei einer relativen Luftfeuchte von mehr als 70%, also auch bei einer außerhalb der Tropen und Subtropen oft vorkommenden Situation, können bei Anwendung bestimmter Einbettungsmittel (Harze) Wasserspuren in das Einbettungsmittel gelangen, ganz besonders, wenn das (gelöste) Harz von der Atemluft getroffen wird. Diese Wasserfilme trüben das Harz so stark, möglicherweise wolkig, daß das Präparat sicher verdorben wird. Es kann kaum abgeholfen werden. Auf jedem Fall bringe man das Objekt wieder in das Lösungsmittel zurück und breche den Einbettungsvorgang ab. Bei geringerer Luftfeuchte kann die Arbeit vollendet werden. Die relative Luftfeuchte kann leicht durch eine Temperaturerhöhung im Arbeitsraum herabgesetzt werden. Der Autor hat bisher noch keine die Atemluft abhaltende Gesichtsmaske verwendet.

11.10.1. Schärfentiefe im mikroskopischen Bild

Jede Untersuchung mit Hilfe von Licht ist abhängig von der Schärfentiefe, und diese ist bei lichtmikroskopischen Untersuchungen recht gering. Diesem versuchen viele Entomologen durch Quetschung ihrer Objekte zu begegnen, um alles in den Schärfenbereich zu bringen. Diese Methode ist abzulehnen und sollte auch von den Instituten verboten werden. Fast alle Totalpräparate sind räumliche Gebilde und sollen möglichst auch als solche dargestellt werden. Daher wird jede Quetschung – sei es durch großflächige, einer besonders starken Adhäsion unterworfenen Deckgläschen – sei es durch Auflegen von Bleigewichten auf das Deckglas – abgelehnt. Gequetschte Präparate ergeben oft überraschend scharfe Aufnahmen, aber kein den natürlichen Gegebenheiten entsprechendes Bild. Neueste Geräte – derzeit nur der NIKON-Scanner – kennen jedoch den Begriff Schärfentiefe nicht mehr und bilden das gesamte Objekt perfekt und scharf ab – ein unwiderlegbares Argument für die Empfehlung des Autors.

11.10.2. Reinigung der Deckgläschen

Die Deckgläschen werden vor dem Auflegen auf das Einschlußmittel mit dem letzten Medium vor dem Einschlußmittel (Xylol, Euparalessenz etc.) gereinigt; diese Mittel sind meist gut geeignet, die statische Aufladung zu verringern, und sie reinigen das Glas sehr gut. Alle Deckgläschen sind mit der Pinzette schräg aufzusetzen und langsam zu senken. Dabei kontrolliert man das Ansaugen des Einschlußmittels durch die Adhäsion zwischen dem Deckglas und dem Objektträger und vermeidet Lufteinschlüsse.

11.10.3. Luftblasen im Einschlußpräparat

Luftblasen im Präparat sind schwer zu entfernen. Eine Methode ist ein langsames Erhitzen über einer nicht zu heißen Flamme (Aethanol, Brennspiritus), wobei ein zu starkes Erhitzen ein Explodieren des eingeschlossenen Gases, ein Aufkochen des Einschlußmittels oder gar ein Springen des Deckgläschens verursachen kann. Beginnt das Luftbläschen in eine Richtung zu wandern, so senke man den Objektträger sofort zur entgegengesetzten Seite.

11.10.4. „Füßchen“

Manche Präparatoren setzen bewußt einen Sockel zwischen das Deckglas und den Objektträger, um jede Quetschung des Objektes zu vermeiden. Diesen Sockel bezeichnet man als „Füßchen“. Dies erreicht man sehr grob durch kleine Splitter des Deckglases, die man zwischen Objektträger und Deckglas einlegt, selbstverständlich nicht in Objektnähe. Dünnere Schichten erlangt man durch Aufsetzen von je einem Tröpfchen Einschlußmittel auf die Ecken

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

des Deckglases. Diese Tropfen läßt man trocknen; sind diese Sockel zu dünn, wiederholt man den Vorgang, indem man auf das erstarrte Einschlußmittel noch ein Tröpfchen setzt. Zum Aufsetzen dieser Tröpfchen nimmt man anstelle des Glasstäbchens eine verkehrte (Insekten-) Nadel. Bei dieser Methode soll man keine Reinigung des Deckglases mit einem Löser oder Aufheller, wie im vorigen Absatz empfohlen, vornehmen. Unbedingt verwende man für die Sockel und für das Objekt das gleiche Einschlußmittel. Es sei ausdrücklich vor Wachs- oder Paraffinsockeln gewarnt, da diese von allen möglichen Lösungsmitteln, Harzen und optischen Aufhellern gelöst werden und dann den Brechungsindex verändern und das optische Bild stören oder gar häßlich trüben.

11.10.5. Trocknung

Die eingebetteten Objekte brauchen eine mehr oder minder lange Trocknungszeit. Diese hängt vor allem vom verwendeten Einschlußmittel, aber auch von der Lagertemperatur ab. Gut bewähren sich Trockenschränke oder Thermostate mit einer Temperatur um 70° C. Man berücksichtige aber, daß alle Einschlußmittel bei steigender Temperatur immer dünnflüssiger werden; daher lagere man die Objektträger immer in horizontaler Position und vermeide alle Bewegungen des Objektträgers, um einer Verlagerung des Deckgläschens vorzubeugen. Vor der Exposition bei einer erhöhten Temperatur lasse man jedes Präparat bei Zimmertemperatur einige Zeit trocknen, um eine Schädigung des Objektes durch leichtfließendes Harz zu vermeiden. Mit einer kleinen Hilfsvorrichtung können die Objektträger auch über der Zentralheizung trocknen.

11.11. Allgemeine Hinweise

Grundvoraussetzung für alle makroskopischen Arbeiten ist ein langsames Arbeiten mit einem einzelnen Organ und nicht mit vielen in einem einzigen Präparationsgang, vollkommen saubere Arbeitsweise und peinlich genaues Säubern der Objekte von allem Schmutz, unerwünschten Gewebeteilen, Schuppen usw., genaue Abtrennung der benötigten Organe und vor allem entsprechender Zeitaufwand zum Einwirken der Chemikalien auf das Objekt. Schwierig ist es, den durch statische Aufladung der Nadeln und anderer feiner Spitzen der Präparationsgeräte anhaftenden Staub zu entfernen oder die Aufladung zu verhindern. Man beachte auch immer die Sauberkeit des Hintergrundes. Auch bei quantitativen Analysen bearbeite man nur dann viele gleiche Organe auf einmal, wenn keine Dauerpräparate notwendig sind und das Material nach der Untersuchung nicht mehr konserviert wird.

Man versäume es nicht, die Präparate auch unter den guten optischen Bedingungen eines größeren, richtig eingestellten klassischen Durchlichtmikroskopes zu betrachten; da werden Einzelheiten sichtbar, die das Stereomikroskop nicht zeigt.

11.12. Präparationsvorschläge für die Genitalpräparation

Kochen in Lauge mit oder ohne Tensidzusatz → Wässern → grobe Reinigung, Positionierung der Organe → Positionsfixierung in hochprozentigem Alkohol → (Färbung*) → (Methylbenzoat, letzte Reinigung) → Xylol → Eukitteinbettung.

Genitaselösung → (Kochen in Lauge) → Wässern → grobe Reinigung, Positionierung der Organe → Positionsfixierung in hochprozentigem Alkohol → (Färbung*) → Aufheller → letzte Reinigung → Auswaschen im zweiten Aufheller → Euparalessenz → Euparaleinbettung.

* oder Doppelfärbung; nur in alkoholischer Farbstofflösung

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

12. Aufbewahrung der Präparate

Grundsätzlich soll sich jeder Anfänger über die Aufbewahrung mikroskopischer Präparate im Fachhandel oder in Instituten informieren, um eine Übersicht über die Möglichkeiten zu gewinnen und gleichzeitig diese Erfahrungen mit seinen Gegebenheiten abstimmen. Alle Präparate müssen fachmännisch in geeigneten Behältern untergebracht werden, die im Fachhandel erhältlich sind. Will sich jemand solche Behälter selbst fertigen, so wird empfohlen, sich an die bewährten Konstruktionen und Maße der im Handel erhältlichen Utensilien strikt zu halten.

Noch nicht erhärtete Präparate müssen horizontal gelagert werden, um eine Verlagerung des Deckgläschens zu vermeiden. Bei einer schiefen Position des Objektträgers schwimmt das Deckglas auf dem noch flüssigen Einbettungsmittel nach unten weg, und das Präparat ist verdorben.

Es gibt zwei Möglichkeiten der endgültigen Aufbewahrung der Präparate: Horizontal und vertikal. Beide werden in entomologischen Instituten angewendet. Die horizontale Lagerung hat den Vorteil, daß auch noch nicht erhärtete Präparate sofort gelagert werden können, weil sich das Deckglas bei dieser Aufbewahrung nicht mehr verlagert („davonschwimmt"). Die Abteilung für Lepidopterologie am Britischen Museum hat sich zu dieser Methode entschlossen, da die Gefahr bestand, daß Präparatoren frische Präparate schief oder vertikal lagern. Diese Aufbewahrung hat den Nachteil, daß sie etwas mehr Stauraum benötigt und daß die Aufbewahrung in Laden wahrscheinlich recht kompliziert wird, da eine schnelle Ladenbewegung die durch Leisten getrennten Präparate verlagern kann. Die seitlichen Halterungen waren zumindest bis jetzt nicht geeignet, die Objektträger zufriedenstellend auf ihrer Position zu fixieren. Derzeit scheint die vertikale Lagerung, bei der die Objektträger mit der Längsachse bodenparallel und mit der Fläche vertikal gelagert sind, günstiger zu sein. Als seitliche Halterungen kommen einfache Wellpappestreifen, Einschnitte in Holz verschiedener Art und Kunststoff in den Handel. Diese können wiederum in Pappe-, Holz- oder Kunststoffbehältern eingeklebt sein. Kleine, solide Behälter dieser Art, für nur ganz wenige Objektträger, werden für den Versand verwendet. In der entomologischen Praxis werden nur Behälter für 50 oder 100 Präparate gebraucht. Man kann diese Schachteln über- und nebeneinander aufbewahren, die Etikettierung (nur die Präparatenummer) kann auf dem vorderen Rahmen oder am Deckel angebracht werden.

13. Andere Techniken

Auf andere, auch unentbehrliche makro-, mikro- und ultramikroskopische Präparationstechniken von Insekten und deren Entwicklungsstadien, wie Ei-, Raupen-, Minen- und Gallenpräparate, Schnitte, Entwässerungen, Fixierungen, SEM-Präparation, Messungen, Dokumentation mit Zeichenapparaten, Fotografie, Scannerbilder, Auf- und Durchlichtmikroskopie und so fort kann hier nicht eingegangen werden. Vor den ersten entomologischen Sektionen und Präparationen ist ein Anfängerkurs in Mikroskopie unbedingt zu besuchen, schon allein, um die Optik zu verstehen und die Handhabung des Mikroskopes zu erlernen. Auch ein Buch über mikroskopische Techniken ist unentbehrlich.

14. Zusammenfassung

In der vorliegenden kleinen Anleitung zur Untersuchung von blattminierenden Schmetterlingen werden die wichtigsten Sammelmethoden, die Zucht, die Tötung, die Präparation und die Konservierung diskutiert. Alle gut bekannten Techniken zur Anfertigung von mikroskopischen und makroskopischen Totalpräparaten von Insektenorganen, besonders die Genitalpräperation werden behandelt.

Mehrere neue Techniken und Methoden werden erstmals vorgestellt.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

15. Literatur

AMSEL H.G. (1935): Wie präpariert man getrocknete Kleinschmetterlinge? — Ent. Z. (Frankf. a. M.) **44**: 114-116.

BRADLEY J.D., TREMEWAN W.G. & A. SMITH (1973): Examination of wing venation of British Tortricoid moths (Cochylidae and Tortricidae: Tortricinae). Ray Society, London.

BRAUN A.F. (ohne Jahr): Leaf-Mining Lepidoptera with special reference to methods of rearing. — The Lepidopterists News 4 (1-2): 3-6.

CALMBACH V. (1923): Praktische Anleitung zur Präparation, Fang und Zucht der Microlepidopteren. Alfred Kernen Verlag, Stuttgart.

CHROMA-GESELLSCHAFT (ohne Jahr): Farbstoffe, Chemikalien, Reagentien. — Ausgabe M **18**. Schmid GmbH & Co., Köngen.

DOMINICK R.B. (1973): The toxicology of some of our more useful chemicals. — Lepid. News **3**: 3-5.

EICHLER F. (1968): Zur Präparation von Microlepidopteren. — Ent. Ber. (Berl.) **6**: 126-128.

FRIEDRICH E. (1975): Handbuch der Schmetterlingszucht. Franksche Verlagshandlung, Stuttgart.

GERLACH D. (1985): Das Lichtmikroskop. — 2. Aufl. Thieme, Stuttgart.

HERING M. (1941): Aus der Praxis. — Mitt. dt. Ent. Ges. **10**(3): ohne Seitenangabe.

HERING E.M. (1944): Aus der Praxis. Anfertigung von Genitalpräparaten bei Microlepidopteren. — Mitt. dt. Ent. Ges. **13** (1/4): 44-45.

HODGES R.W. (1958): A method of preparing fresh Microlepidoptera for spreading. — Lepid. News: 205.

KLIMESCH J. (1968): Über die Zucht von Microlepidopteren (Arbeitsmaterialien für Kleinschmetterlingssammler, Nr. 3). — Ent. Ber. Berl. **6**: 119-126.

KOBES L. (1990): Zum Problem der Präparation von Tütenfaltermaterial. — Ent. Z. (Frankf. a. M.):1990: 459-460.

KRANCHER O. (1933): Über Nadelung und Spannen der kleinsten Kleinfalter. — Ent. Jb. **1933**: 1-7.

MAYR E. (1975): Grundlagen der zoologischen Systematik. Paul Parey, Hamburg und Berlin.

NACHTIGALL W. (1994): Mikroskopieren. 2. Aufl., BLV, München.

ORTNER A. (1946): Aus der Praxis des Entölens von Lepidopteren. — Z. Wien. Ent. Ges. **31**: 172-179.

PAWLOWSKI J.N. (1960): Methoden der Sektion von Insekten. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften. Berlin 1960.

PFEFFERKORN G. & L. REIMER (1977): Raster-Elektronenmikroskopie. 2. Aufl., Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

SATTLER K. (1972): Bemerkungen zur Behandlung und Darstellung von Lepidopteren-Genitalien. — Ent. Nachr. Bl. (Wien) **18**(1-2): 86-88.

SCHÜLLER L. (1961): Ein neues Verfahren zum Entfetten von Schmetterlingen. Museumstechnik, Haus der Natur, Salzburg. Oktoberheft.

SCHÜTZE K.T. (1929): Sammelt Kleinschmetterlinge. — Ent. Z. (Frankf. a. M.) **44**: 3-13, 190-210.

SCHÜTZE K.T. (1933): Winterarbeit. — Ent. Z. (Frankf. a. M.) **46**: 253.257.

SEIFERT G. (1970): Entomologisches Praktikum. Thieme, Stuttgart.

SOKOLOFF P. (1980): Practical hints for collecting and studying the Microlepidoptera. — Amat. Ent. **16**: 1-40.

STAMM K. (1958): Lichtfang mit UV-Licht und optischen Aufhellern. — Dt. Ent. Z. N.F. **5**: 471-474.

STEHLI G. (1953): Sammeln und Präparieren von Tieren. Franck'sche Verlagshandlung, Stuttgart.

Anschrift des Verfassers: Gerfried DESCHKA
Resselstraße 18
A-4400 Steyr.